

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
27. Juli 2000 (27.07.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 00/43333 A3

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07B 61/00, G01N 33/53 (74) Anwälte: FORSTMAYER, Dietmar usw.; Boeters & Bauer, Bereiteranger 15, D-81541 München (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/00462 (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
21. Januar 2000 (21.01.2000)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (30) Angaben zur Priorität:  
199 02 378.6 21. Januar 1999 (21.01.1999) DE
- (71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): MORPHOCHEM AG [DE/DE]; Gmunder Strasse 37-37a, D-81379 München (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): ALMSTETTER, Michael [DE/DE]; Eixendorf 3, D-85417 Marzling (DE). DOEMLING, Alexander [DE/DE]; Kunzweg 17a, D-81241 München (DE). ILLGEN, Katrin [DE/DE]; Pasinger Strasse 28, D-82152 Planegg (DE). WEBER, Lutz [DE/DE]; Steinweg 13, D-79639 Grenzach-Wyhlen (DE).
- Veröffentlicht:  
— Mit internationalem Recherchenbericht.
- (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen  
Recherchenberichts: 10. Mai 2001
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

(54) Title: METHOD FOR THE COMBINATORIAL SEARCH FOR REACTIONS FOR PRODUCING USEFUL PRODUCTS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR KOMBINATORISCHEN REAKTIONSFINDUNG ZUR HERSTELLUNG VON NÜTZ-  
LICHEN PRODUKTEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for the algorithmic search for and production of biologically active chemical compounds. Said method comprises the following steps: (1) producing an algorithmic library of different multicomponent reactions; starting from a library of suitable and diverse types of chemical starting compounds; (2) biologically testing said library; (3) identifying suitable multicomponent reactions from this range of suitable reactions; (4) choosing a multitude of chemical starting substances of those types that are required for the identified and suitable multicomponent reactions; (5) finding optimum combinations from said constructed chemical range of suitable multicomponent reactions by (6) algorithmically producing and biologically testing compounds of said library. The inventive method is exemplified by way of the example of finding new antibiotically active polyketoidous compounds.

(57) Zusammenfassung: Es wird ein Verfahren zur algorithmischen Auffindung und Herstellung von biologisch wirksamen chemischen Verbindungen beschrieben. Das Verfahren besteht aus der (1) Herstellung einer algorithmischen Bibliothek von unterschiedlichen Multikomponentenreaktionen, ausgehend von einer Bibliothek geeigneter und diverser Typen von chemischen Ausgangsstoffen, der (2) biologischen Testung dieser Bibliothek, der (3) Identifizierung geeigneter Multikomponentenreaktionen aus diesem Raum der möglichen Reaktionen, der (4) Auswahl einer Vielzahl von chemischen Ausgangsstoffen solcher Typen, die für die identifizierten und geeigneten Multikomponentenreaktionen benötigt werden, die (5) Auffindung von optimalen Kombinationen aus dem damit konstruierten chemischen Raum dieser geeigneten Multikomponentenreaktionen durch die (6) algorithmische Herstellung und biologische Testung von Verbindungen dieser Bibliothek. Das Verfahren wird am Beispiel der Auffindung neuer antibiotisch wirksamer polyketoidartiger Verbindungen beispielhaft erläutert.

WO 00/43333 A3



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :</b> <b>C07B 61/00, G01N 33/53</b>	<b>A2</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/43333</b>  <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 27. Juli 2000 (27.07.00)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP00/00462 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 21. Januar 2000 (21.01.00)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 199 02 378.6      21. Januar 1999 (21.01.99)      DE  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> MOR- PHOCHEM AG [DE/DE]; Gmunder Strasse 37-37a, D-81379 München (DE).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> ALMSTETTER, Michael [DE/DE]; Eixendorf 3, D-85417 Marzling (DE). DOEM- LING, Alexander [DE/DE]; Kunzweg 17a, D-81241 München (DE). ILLGEN, Katrin [DE/DE]; Pasinger Strasse 28, D-82152 Planegg (DE). WEBER, Lutz [DE/DE]; Steinweg 13, D-79639 Grenzach-Wyhlen (DE).  <b>(74) Anwälte:</b> FORSTMAYER, Dietmar usw.; Boeters & Bauer, Bereiteranger 15, D-81541 München (DE).		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu          veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>
<b>(54) Title:</b> METHOD FOR THE COMBINATORIAL SEARCH FOR REACTIONS FOR PRODUCING USEFUL PRODUCTS		
<b>(54) Bezeichnung:</b> VERFAHREN ZUR KOMBINATORISCHEN REAKTIONSFINDUNG ZUR HERSTELLUNG VON NÜTZLICHEN PRODUKTEN		
<b>(57) Abstract</b>		
<p>The invention relates to a method for the algorithmic search for and production of biologically active chemical compounds. Said method comprises the following steps: (1) producing an algorithmic library of different multicomponent reactions; starting from a library of suitable and diverse types of chemical starting compounds; (2) biologically testing said library; (3) identifying suitable multicomponent reactions from this range of suitable reactions; (4) choosing a multitude of chemical starting substances of those types that are required for the identified and suitable multicomponent reactions; (5) finding optimum combinations from said constructed chemical range of suitable multicomponent reactions by (6) algorithmically producing and biologically testing compounds of said library. The inventive method is exemplified by way of the example of finding new antibioticly active polyketoidous compounds.</p>		
<b>(57) Zusammenfassung</b>		
<p>Es wird ein Verfahren zur algorithmischen Auffindung und Herstellung von biologisch wirksamen chemischen Verbindungen beschrieben. Das Verfahren besteht aus der (1) Herstellung einer algorithmischen Bibliothek von unterschiedlichen Multikomponentenreaktionen, ausgehend von einer Bibliothek geeigneter und diverser Typen von chemischen Ausgangsstoffen, der (2) biologischen Testung dieser Bibliothek, der (3) Identifizierung geeigneter Multikomponentenreaktionen aus diesem Raum der möglichen Reaktionen, der (4) Auswahl einer Vielzahl von chemischen Ausgangsstoffen solcher Typen, die für die identifizierten und geeigneten Multikomponentenreaktionen benötigt werden, die (5) Auffindung von optimalen Kombinationen aus dem damit konstruierten chemischen Raum dieser geeigneten Multikomponentenreaktionen durch die (6) algorithmische Herstellung und biologische Testung von Verbindungen dieser Bibliothek. Das Verfahren wird am Beispiel der Auffindung neuer antibiotisch wirksamer polyketoidartiger Verbindungen beispielhaft erläutert.</p>		

# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

**Verfahren zur kombinatorischen Reaktionsfindung zur Herstellung von nützlichen Produkten.**

Die vorliegende Erfindung betrifft die Auffindung und Herstellung von chemischen Verbindungen mit gewünschten und nützlichen physikalischen, chemischen und/oder biologischen Eigenschaften mittels eines auf Multikomponentenreaktionen basierenden iterativen Verfahrens. Die erfindungsgemäßen Verbindungen können als Medikamente, Veterinärprodukte, Impfstoffe, Kosmetika, Pflanzenschutzmittel etc. oder als Zusatzstoffe zu diesen oder als Liganden, Katalysatoren, katalytische Cofaktoren, Detektormoleküle, Polymere, Peptide und Klebstoffe Verwendung finden.

Verfahren zur Auffindung neuer chemischer Verbindungen mit gewünschten physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften und neuer Reaktionen zur Herstellung chemischer Verbindungen mit gewünschten physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften sind Gegenstand zahlreicher Patente, Verfahren, Methoden und wissenschaftlicher Untersuchungen. Diese sollen insbesondere jeweils eine oder mehrere der folgenden Aufgaben lösen:

- (a) Die Generierung von neuen chemischen Reaktionen, Grundstrukturen, Verbindungen oder kombinatorischen Substanzbibliotheken,
- (b) die Generierung hoher chemischer Diversität, wobei der Begriff Diversität als der Informationsgehalt einer chemischen Reaktion, Verbindung oder Substanzbibliothek definiert wird,
- (c) die Bereitstellung von Verfahren zur Generierung von kombinatorischen Substanzbibliotheken,

- (d) die Bereitstellung von Optimierungs- und anderen Verfahren zur Auffindung aktiver Verbindungen aus solchen Bibliotheken,
- (e) die Bereitstellung von neuen biologischen Testsystemen und Verfahren;
- (f) die Bereitstellung von Verfahren zur Synthese von gewünschten Verbindungen,
- (g) die Analyse und Optimierung der Zeitdauer der einzelnen Schritte der Auffindung und Herstellung solcher Verbindungen, und
- (h) die Analyse und Optimierung der Kosten der einzelnen Schritte der Auffindung und Herstellung solcher Verbindungen.

Keines der bisher bekannten Verfahren löst jedoch gleichzeitig alle der oben genannten Aufgaben (a-h). Das Ziel einer schnellen und effizienten Auffindung und Herstellung von nützlichen chemischen Verbindungen wird somit durch den Stand der Technik bestenfalls nur teilweise ermöglicht:

Die (gezielte) Synthese von kombinatorischen Substanzbibliotheken ist als ein Weg zur Auffindung neuer chemischer Verbindungen mit gewünschten Eigenschaften beschrieben worden (Gallop, *Journal of Medicinal Chemistry*, 37(9), 1994, 1233-1250). Diese Methode liefert eine große Zahl von neuen chemischen Verbindungen - eine Substanzbibliothek - bei der meist nur die Substituenten um ein gemeinsames chemisches Grundgerüst variiert werden.

Darüber hinaus werden bei ihr die Bibliotheken mit einer beschränkten Anzahl sequentieller Reaktionen aufgebaut, die nur eine geringe Diversität der verwendeten Grundgerüste zuläßt. Zahlreiche molekulare Eigenschaften wie z.B. Lipophilie, orale Bioverfügbarkeit, biologische Wirksamkeit, metabolische Stabilität etc. sind jedoch mit diesen Grundgerüsten verknüpft, so daß viele dieser Eigenschaften mit diesen Substanzbibliotheken nicht darstellbar sind.

Die generelle Diversität, d.h. der Informationsgehalt dieser systematischen Substanzbibliotheken ist also aufgrund ihres Aufbauprinzipes im Vergleich zu zufälligen Substanzbibliotheken gering. (Als zufällige Substanzbibliotheken werden hier solche Substanzsammlungen bezeichnet, die nicht durch ein einheitliches, systematisches Verfahren herstellbar sind, wie z.B. Naturstoffsammlungen.) Solche kombinatorischen Substanzbibliotheken weisen also aufgrund ihrer geringen Diversität und ihres redundanten Informationsgehaltes den Nachteil auf, daß bei ihnen eine verminderte Wahrscheinlichkeit besteht, interessante chemische Verbindungen mit der gewünschten biologischen Aktivität zu finden. Ferner weisen sie bezüglich der benötigten Zeit und der entstehenden Kosten für die Herstellung und Testung dieser Verbindungen Nachteile auf.

Die geringe Diversität birgt jedoch auch Vorteile: da die Verbindungen immer als chemisch verwandte Familien hergestellt und getestet werden, erhält man jeweils limitierte Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SAB). Diese SAB ermöglichen den Ausschluß häufig auftretender Fehler bei der

biologischen Testung, wie zum Beispiel falsch positive oder falsch negative Signale, die durch Gerätefehler, Verunreinigungen in den Testproben u.s.w. auftreten können. Weiterhin kann eine solche SAB Hinweise auf eine mögliche Optimierung der chemischen Verbindungen hinsichtlich ihrer biologischen und anderen Eigenschaften geben.

Zufällige Substanzbibliotheken zeigen meist nicht die oben geschilderten Nachteile der geringen Diversität (J.P.Devlin, The Discovery of Bioactive Substances - High Throughput Screening, Marcel Dekkert, 1998). Die breite Testung dieser Substanzbibliotheken auf verschiedene biologische Wirksamkeiten ist deshalb ein Standardweg zur Auffindung biologisch wirksamer Verbindungen. Nachteil dieses Verfahrens ist jedoch, daß die so gefundenen Verbindungen sich oft nicht mit einer einfachen, effizienten und schnellen Synthese herstellen lassen. Die Ausarbeitung einer kombinatorischen Synthese als Zugang zu diesen Verbindungen für die Optimierung der Substanzeigenschaften ist zeitraubend und teuer. Ein weiterer Nachteil dieser zufälligen Substanzbibliotheken besteht bei ihrer biologischen Testung darin, daß sie nicht systematisch aufgebaut sind, was den Ausschluß falsch positiver oder falsch negativer Testergebnisse aufgrund von SAB nicht erlaubt. Solche SAB müssen nach dem Testen dieser Bibliotheken erst in einem Folgeschritt durch die Synthese chemisch verwandter Verbindungen aufgebaut werden. Hat man durch das Testen der Zufallsbibliotheken eine große Anzahl chemisch diverser Verbindungen mit interessanten biologischen Aktivitäten erhalten, so ist dieser nachfolgende Schritt äußerst zeitaufwendig, da für die Herstellung einer jeden dieser Verbindungen andere, nicht immer



bekannte chemische Verfahren angewendet werden müssen. Dieses Verfahren führt deshalb oft zu einer Auswahl solcher Verbindungen, die sich chemisch leichter herstellen lassen, wobei kompliziertere Verbindungen, wie zum Beispiel Naturstoffe nicht weiter betrachtet werden.

Verfahren zur Auffindung und Herstellung von biologisch wirksamen Verbindungen sind bereits beschrieben worden. Dazu zählen Verfahren wie Molekular Modelling, in denen entweder die Struktur des biologischen Zielmoleküls oder eine Serie von bekannten Verbindungen mit bekannter biologischer Aktivität benutzt werden, um neue und bessere Verbindungen zu planen. Dieses Verfahren ist jedoch aus verschiedenen Gründen nur beschränkt anwendbar, insbesondere dann, wenn die Struktur des biologischen Zielmoleküls nicht bekannt ist, oder noch keine Verbindungen mit bekannter Aktivität vorliegen.

Andere Verfahren (Agrafiotis, System and Method of Automatically Generating Chemical Compounds with Desired Properties, US 5,463,564, Oct. 31, 1995) benötigen die komplizierte Auswertung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen, die wiederum die sequentielle, automatisierte Synthese von gereinigten Verbindungen mit bekannter Struktur voraussetzen. Solche expliziten Struktur-Aktivitäts-Beziehungen haben sich in der Vergangenheit als nur partiell nützlich erwiesen, da mit ihnen zwar teilweise eine Verbesserung der Aktivität am Zielmolekül vorausgesagt werden kann, jedoch andere Faktoren, wie z.B. orale Bioverfügbarkeit oder Toxizität, die eine andere Abhängigkeit von der Struktur zeigen, nicht berücksichtigt werden.

Weiter ist ein Verfahren vorgestellt worden, welches die Auffindung und Herstellung von chemischen Verbindungen mit gewünschten Eigenschaften ohne Kenntnis der Struktur der synthetisierten Verbindungen beinhaltet (S. Kauffman, J. Rebek, Random Chemistry for the Generation of New Compounds, WO 94/24314). Dieses Verfahren verwendet jedoch eine Vielzahl von sequentiellen Syntheseschritten, um zu molekularer Diversität zu gelangen. Dabei wird die gewünschte Diversität nur dann erzielt, wenn die Zahl der verschiedenen chemischen Verbindungen in einer Synthese und Testprobe eine hohe Komplexität erreicht und einen superkritischen Punkt übersteigt. Dieses Verfahren beseitigt außerdem nicht die Probleme der Testung hochkomplexer und unbekannter Produktgemische, die bekanntermassen zu falsch positiven und falsch negativen Resultaten führen kann. Ferner ist die Identifizierung und Isolierung der in nur geringer Konzentration vorliegenden chemischen Verbindungen technisch aufwendig; auch ist die einfache Resynthese einer Verbindung aus einem solchen superkritischen Gemisch noch nicht gezeigt worden und sollte schwierig sein, wenn es sich nicht um biologisch amplifizierbare Verbindungen wie Peptide, DNA oder RNA, die nur beschränkte pharmazeutische Bedeutung haben, handelt.

Ein Verfahren, welches die Suche nach und die Herstellung von chemischen Verbindungen mit einer komplexen Zielfunktion verbindet, die mehrere gewünschte Eigenschaften oder sogar ein breites Spektrum von Eigenschaften (für die chemische Zielverbindung) beinhaltet, ist noch nicht vorgestellt worden.

Aufgrund der oben geschilderten Probleme besteht ein Bedarf an einem Verfahren zur schnellen und effizienten Auffindung und Herstellung biologisch wirksamer Verbindungen, welches die geschilderten Nachteile beseitigt.

Weiter besteht ein Bedarf an einem Verfahren, daß die Herstellung strukturell neuer und naturstoffanaloger Verbindungen auf einfache Weise ermöglicht.

Weiter besteht ein Bedarf an einem Verfahren, daß die einfache Testung dieser Verbindungen ermöglicht, wobei die Testresultate einen größtmöglichen Einfluß auf die weitere Herstellung neuer, verbesserter chemischer Substanzen haben sollen.

Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist ein neuer Zugang zu neuen Substanzklassen wie Polyketiden, in nur einem oder wenigen Schritten.

Erfindungsgemäß wird ein Verfahren für die schnelle und effiziente Auffindung und Herstellung von biologisch wirksamen Verbindungen bereitgestellt, welches die vorstehend bezeichneten Aufgaben, insbesondere die Aufgaben (a-h) löst, und somit die Mängel bekannter Verfahren behebt.

Das Verfahren umfaßt die folgenden Schritte:

- (1) Auswahl von M unterschiedlichen für Multikomponentenreaktionen (MCRs) geeigneten Edukten,

- (2) Umsetzung von jedem Edukt mit einem anderen oder jeder möglichen Kombination von bis zu M-1 anderen gemäß (1) ausgewählten Edukten.
- (3) Analyse der Produkte,
- (4) Bewertung der Produkte und Auswahl mindestens eines Produkts,
- (5) Bestimmung der Edukte, die zu dem oder den in (4) ausgewählten Produkt(en) geführt haben, und
- (6) Bereitstellung von mindestens einer Variante von mindestens einem der Edukte, die in (5) bestimmt wurden,
- (7) Umsetzung der in (6) bereitgestellten Edukte gegebenenfalls mit den übrigen in (5) bestimmten Edukten im Rahmen einer MCR,
- (8) Wiederholung der Schritte (4) bis (7) bis mindestens ein Produkt gefunden wird, das die gewünschte(n) Eigenschaft(en) aufweist, und
- (9) gegebenenfalls Isolierung und Charakterisierung des Produkts.

Erfindungsgemäß wird also zunächst ein Satz von M unterschiedlichen für Multikomponenten-Reaktionen (MCR's) geeigneten Edukten ausgewählt. Dann werden mit diesen Edukten alle MCR's durchgeführt, die mit diesen Edukten möglich sind, wobei vorzugsweise mindestens 3 Edukte und maximal alle Edukte miteinander umgesetzt werden. Bei 5

Edukten sind also z.B. Reaktionen aller Dreier-Kombinationen, und aller Vierer-Kombinationen und eine Reaktion der Fünfer-Kombination möglich.

Sodann werden die Eigenschaften der entstandenen Produkte durch Analysen, Assays etc. festgestellt, wobei es nicht zwingend notwendig ist, die Produkte selbst zu analysieren oder ihre Struktur aufzuklären. Ein solcher Schritt ist jedoch selbstverständlich möglich und wird auch von der vorliegenden Erfindung umfaßt.

Dann werden die Eigenschaften der Produkte bewertet: Soll z.B. ein Produkt mit einer antibakteriellen Wirkung gegen *Pseudomonas aeruginosa* gefunden werden, so werden das oder die Produkte ausgewählt, die die beste entsprechende Wirkung haben.

Diese Produkte oder dieses Produkt kann dann gegebenenfalls mit dem nächstbesten Produkt oder den nächstbesten Produkten verglichen werden, um Rückschlüsse über mögliche Faktoren zu erlangen, die für die Wirkung des besten Produkts oder der besten Produkte relevant sind.

Um festzustellen, durch welche MCR das optimale Produkt entstanden ist, kann es mit seinen Sub- und Suprakombinationen verglichen werden:

Weist z.B. das Produkt einer 5-Komponentenreaktion gute Eigenschaften auf, so wird es mit den Produkten der mit diesen Komponenten möglichen 4-Komponentenreaktionen verglichen und außerdem mit Produkten, die durch 6-Komponentenreaktionen hergestellt wurden, bei denen zusätzlich zu den 5 bei der 5-Komponentenreaktion verwende-

ten Edukten ein weiteres Edukt verwendet wird. Weist z.B. das Produkt der 4-Komponentenreaktion ähnlich gute Eigenschaften auf wie das Produkt der 5-Komponentenreaktion, so liegt der Schluß nahe, daß die 5. Komponente nicht zu den Eigenschaften des Produkts beiträgt und z.B. nur als Katalysator wirkt oder gar nicht an der Reaktion beteiligt ist.

Nach der Bewertung der Produkte werden eines oder mehrere Produkte ausgewählt.

Im weiteren wird das erfindungsgemäße Verfahren anhand eines einzigen ausgewählten Produkts beschrieben, wobei klar ist, daß auch mehrere Produkte ausgewählt und das Verfahren parallel mit mehreren Produkten durchgeführt werden kann.

Im nächsten Schritt werden die Edukte bestimmt, die zu dem ausgewählten Produkt geführt haben, das die besten Eigenschaften aufweist. Weist im vorstehend angegebenen Beispiel das aus 5 Edukten hergestellte Produkt die besten Eigenschaften auf, so werden diese 5 Edukte in den weiteren Schritten des Verfahrens zugrunde gelegt.

Mindestens eines der Edukte, z.B. eine Aminosäurekomponente, wird dann in dem Sinne variiert bzw. modifiziert, daß z.B. mindestens ein Substituent ausgetauscht und/oder mindestens ein (weiterer) Substituent eingeführt wird. Selbstverständlich können auch 2, 3 oder alle Edukte chemisch variiert oder modifiziert werden.

Die variierten bzw. modifizierten Edukte werden daraufhin im Rahmen der selben MCR umgesetzt, die in den vorherigen

Stufen des Verfahrens zu dem optimalen Produkt geführt hat. Werden bei dem vorstehenden Beispiel z.B. 2 Edukte so modifiziert, daß von jedem dieser beiden Edukte eine weitere Variante vorliegt, die anderen drei Edukte jedoch unmodifiziert weiterverwendet werden, so sind drei neue Reaktionen desselben MCR-Typs möglich, da bei der einen Reaktion drei ursprüngliche Edukte und zwei neue Edukte und bei den beiden anderen Reaktionen vier ursprüngliche Edukte und jeweils ein modifiziertes Edukt eingesetzt werden können.

Daraufhin wird wiederum das Produkt oder die Produkte mit den besten Eigenschaften ausgewählt und gegebenenfalls aufgrund der Variationen bzw. Modifikationen festgestellt, worauf die gegebenenfalls eingetretene Verbesserung der Eigenschaften zurückzuführen ist: Wird z.B. festgestellt, daß die Vergrößerung eines Substituenten an einer Aminkomponente zu einer Verbesserung der Eigenschaften führt, so wird man bei der Wiederholung der Schritte Edukte auswählen, bei denen mindestens ein Substituent an der Aminkomponente weiter vergrößert wird.

Durch das erfindungsgemäße Verfahren werden also bei einem bestimmten Satz von Edukten zunächst alle mittels Multikomponenten-Reaktionen herstellbaren Grundgerüste hergestellt und die Eigenschaften der unterschiedlichen Gerüste miteinander verglichen.

In der zweiten Stufe des Verfahrens werden danach z.B. die Substituenten am ausgewählten Gerüst solange verändert, bis ein Produkt mit einer optimalen Wirkung gefunden wurde.

Ein Vorteil des hier offenbarten Verfahrens gegenüber herkömmlichen Verfahren zur Wirkstofffindung ist die schnelle und effiziente Auffindung von chemischen Verbindungen, die eine gewünschte Zielfunktion erfüllen. Die Zielfunktion kann z.B. eine bestimmte biologische Wirksamkeit und/oder ein Spektrum anderer gewünschter pharmakologischer und physiko-chemischer Eigenschaften sein und wird je nach gesuchtem Molekül etc. variiert. Bevorzugt handelt es sich dabei um therapeutische Eigenschaften.

Ein weiterer Vorteil des hier offenbarten Verfahrens ist, daß für die Auffindung solcher Verbindungen weder die Kenntnis der chemischen Struktur der herzustellenden bzw. hergestellten Verbindungen noch die Kenntnis der in den Experimenten ablaufenden chemischen Reaktionen notwendig ist. Die Erstellung komplexer Struktur-Aktivitäts-Beziehungen ist damit nicht notwendig.

Ein weiterer Vorteil des hier offenbarten Verfahrens ist, daß das gewünschte Produkt mit einer Multikomponentenreaktion herstellbar ist, sei es über eine bereits bekannte oder durch eine in dem erfindungsgemäßen Verfahren gefundene neue chemische Reaktion, und daß somit das Produkt durch sehr einfache chemische Verfahrensschritte zugänglich ist, selbst wenn es sich um strukturell sehr komplizierte Verbindungen handelt.

Ein weiterer Vorteil des hier offenbarten Verfahrens ist, daß durch die Kombinatorik der verschiedenen Startmaterialien eine Vielzahl neuer und verschiedenartiger chemischer Grundstrukturen entsteht, wobei nicht nur die Substituenten dieser Grundgerüste, sondern auch die Grundge-



rüste selbst variiert werden und auf ihre Eignung für das Finden neuartiger Verbindungen mit hervorragenden Eigenschaften geprüft werden.

Ein weiterer Vorteil ist außerdem, daß die Effizienz des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Auffindung und Herstellung von biologisch wirksamen chemischen Verbindungen auf einfache Weise gemessen werden kann.

Insbesondere kann also mit dem erfindungsgemäßen Verfahren die Diversität, d.h. der Informationsgehalt von chemischen Reaktionen, chemischen Verbindungen oder Substanzbibliotheken an die einzelnen Phasen der Auffindung, Optimierung und Herstellung von chemischen Verbindungen mit den gewünschten Eigenschaften angepaßt werden bzw. kann ihnen entsprechen, zumal die Vorteile kombinatorischer Substanzbibliotheken mit denen der Zufallsbibliotheken vereinigt werden.

Erfindungsgemäß wird also ein Verfahren offenbart, das den schnellen und effizienten Zugang zu neuen Verbindungen mit pharmakologisch herausragenden Eigenschaften durch die iterative Selektion der Edukte, die Herstellung von selektionierten Produkten mittels Multikomponentenreaktionen und ihre biologische, pharmakologische und/oder physiko-chemische Testung, insbesondere ihre Testung auf ihr therapeutisches Potential, in mehreren Cyclen ermöglicht.

Das Verfahren kann z.B. zur Herstellung von beliebigen Produkten mit gewünschten Eigenschaften wie z.B. Medika-

menten, Veterinärprodukten, Impfstoffen, Kosmetika, Pflanzenschutzmitteln etc. oder Zusatzstoffen zu diesen oder Liganden, Katalysatoren, katalytischen Cofaktoren, Detektormolekülen, Polymeren, Peptiden und Klebstoffen eingesetzt werden.

Gegenstand der Erfindung ist sowohl das Verfahren als auch die mit diesem Verfahren gefundenen Produkte.

Im weiteren wird das Verfahren der vorliegenden Erfindung im Detail erläutert:

1) In einem ersten Schritt wird also eine Anzahl  $M$  unterschiedlicher chemischer Startmaterialien (Edukte) ausgewählt, die mit in der Organischen Chemie üblichen und für Multikomponentenreaktionen (MRCs) wie Passerini- oder Ugi-MCRs geeigneten funktionellen Gruppen (J. March, Advanced Organic Chemistry, Wiley-Interscience, New York, 1984) ausgestattet sind, wie

-NC, -CO-, -CS-, -CN, -OCN, -NCO, -NO, -NO<sub>2</sub>, -ONO<sub>2</sub>, -CHO, -COOR, -COSR, -CSSR, -COCOOR, -SCN, -NCS, -Halogen, -N<sub>3</sub>, -NNNR, -OR, -SR, -OCOOR, -SCOOR, -NRCOOR', -OCSOR, -SCSOR, -NRCSOR', -OCSSR, -SCSSR, -NRCSSR', -OCONR'R, -SCONR'R, -NRCONR'R'', -NRR', -NRR'NR''R''', -CNNRR', -CNNRR'HX, -NRCONR'R'', -NRCSNR'R'', -RCOCR'R'', -RCSCR'R'', -COCRR-'Halogen, -RCNR'CR'' wobei R, R', R'' und R''' unabhängig voneinander H oder Alkyl, Aryl, Aralkyl, Hetaryl, oder Hetarylalkyl bedeuten können, wobei "Alkyl" vorzugsweise C1-C10-Alkyl bedeutet, "Ar(yl)" vorzugsweise bis zu 10, stärker bevorzugt bis zu 2 oder 3, vorzugsweise aromatische Ringe aufweist und "Het" vorzugsweise N, O oder S umfaßt,

oder Epoxygruppen oder Carbene oder ungesättigte vinyloge Varianten (Alken, Alkin, Aryl) der vorstehend genannten funktionellen Gruppen, oder entsprechende Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Penta- oder Hexacarbonyl Varianten der vorstehend genannten funktionellen Gruppen,

wobei insbesondere zwei, drei, vier oder mehrere der vorstehend genannten funktionellen Gruppen in einem oder mehreren dieser Edukte, insbesondere in geeigneter Kombination gleichzeitig vorliegen können.

Ein Teil der funktionellen Gruppen kann mit in der Organischen Chemie üblichen Schutzgruppen (T.W.Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley-Interscience, New York, 1981) versehen sein.

Bevorzugt werden solche Edukte ausgewählt, die bekanntermaßen gute Edukte für Multikomponentenreaktionen sind, wie alpha-Haloketone, Ester, Carbonsäuren, Thiocarbonsäuren, Aldehyde, Amine, Ketone, Isonitrile, Nitrile, alpha-Ketosäuren, alpha-Ketoester, und deren Derivate und alpha-beta ungesättigte Varianten, sowie Kombinationen davon,

wobei entsprechende Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Penta- oder Hexacarbonyl Varianten der vorstehend genannten funktionellen Gruppen besonders bevorzugt sind.

Erfindungsgemäß werden diese M Edukte vorzugsweise in einer für einen Algorithmus zugänglichen Form kodiert, wobei den ausgewählten Edukten entweder zufällig oder systematisch binäre, dezimale oder alphanumerische Kodierungen zugeordnet werden.

Bevorzugt wird einem Edukttyp einer bestimmten chemischen Klasse, wie z.B. Aldehyden, eine charakteristische Grundkodierung wie z.B. "A" zugeordnet, wobei besonders bevorzugt verschiedenen Edukten, die in diese Klasse fallen,

wie verschiedene spezielle Aldehyde, eine zusätzliche Kodierung wie die Zahlen "1, 2, 3 ..." zufällig zugeordnet wird, so daß sich eine alphanumerische Gesamtkodierung A1 für Benzaldehyd und A2 für Acetaldehyd, oder B1 für Anilin und B2 für Methylamin ergibt.

Chemische Klassen (Substanzklassen, Edukt-Typen) bezeichnen also z.B. Aldehyde, Amine, Carbonsäuren, insbesondere bezeichnen sie Komponentengruppen von MCRs.

Für M verschiedene Edukte erhält man so erfindungsgemäß N verschiedene Kodierungen. Die Menge N soll dabei die Menge der (unterschiedlichen) Eduktklassen oder chemischen Klassen bedeuten, wobei ein Edukt erfindungsgemäß verschiedenen solcher Klassen zugeordnet und entsprechend kodiert werden kann, wie z.B. beta-Ketopropionsäure der Klasse der Ketone, der Carbonsäuren oder der beta-Ketosäuren zuordenbar ist. Besonders bevorzugt ist eine Kodierung, bei der jedes Edukt nur in jeweils einer Klasse kodiert wird.

Insbesondere kann durch eine geeignete Auswahl von Edukten der Produktraum, d.h. die Art und Menge der voraussichtlich zu erhaltenden Produkte zumindest in gewissem Rahmen selektiert werden bzw. vorgegeben werden.

Vorzugsweise ist in dem erfindungsgemäßen Verfahren  $M \leq 40$ , stärker bevorzugt ist  $M \leq 30$ , noch stärker bevorzugt ist  $M \leq 20$  und am stärksten bevorzugt ist  $M \leq 12$ .

2) In einem zweiten Verfahrensschritt werden die Edukte im Rahmen einer - auch unbekannten - MCR gleichzeitig oder sequentiell umgesetzt. Dabei wird jedes Edukt mit jedem anderen Edukt oder bevorzugt jeder möglichen Kombination von 2 bis zu  $M-1$  anderen Edukten umgesetzt, die im ersten Verfahrensschritt ausgewählt werden.

Ein Vorteil des erfindungsgemäßen Verfahrens besteht darin, daß eine Kenntnis der möglichen Reaktionen, die diese Edukte eingehen können, nicht erforderlich ist.

Erfindungsgemäß werden in dem zweiten Verfahrensschritt alle oder gegebenenfalls nach einem Algorithmus ausgewählte Multikomponenten-Kombinationen  $MKK(K)$  von  $K$  verschiedenen Edukten aus einer Menge  $N$  verschiedener Edukte, die eine Untermenge aus der zu Verfügung stehenden Menge  $M$  von Edukten darstellt, unter in der Organischen Chemie üblichen Bedingungen, wie z.B. für Passerini- oder Ugi-MCR Reaktionen mit 4, 5, 6, 7, 8, 9 oder 10 Komponenten üblich, gleichzeitig oder in sequentieller Reihenfolge zur Reaktion gebracht. Dazu können die gegebenenfalls ausgewählten Edukte in einem oder mehreren Lösungsmitteln wie Methanol, Tetrahydrofuran, Dioxan, Dimethylsulfoxid, Wasser oder Gemischen von diesen eventuell unter Luftausschluss oder einer Stickstoff, Sauerstoff, Wasserstoff oder Argonatmosphäre in einem Temperaturbereich zwischen  $-60^{\circ}\text{C}$  bis  $150^{\circ}\text{C}$  zusammengegeben werden. Zusätzlich können Hilfsmittel oder Katalysatoren wie z.B. Lewis-Säuren wie Bortrifluorid-etherat, Zinkchlorid, Ytterbiumtriflat, Eisenchlorid, andere Säuren wie z.B. Salzsäure, para-Toluolsulfonsäure, Essigsäure oder Basen wie z.B. Kaliumcarbonat, Triethylamin, Cäsiumcarbonat, oder wasserent-

ziehende Mittel wie Molsiebe oder Orthoester Verwendung finden.

Im ersten Cyclus des Verfahrens werden bevorzugt aus der Menge M solche N ausgewählt, die zu verschiedenen Substanzklassen gehören,

wobei die Gesamtzahl aller Experimente E die Summe von  $K = 1$  bis N über alle K aus N nach Gleichung (1) ist,

$$E = \sum N! / ((N-K)! * K!) \quad \text{Gleichung (1)}$$

wobei K somit die Zahl der für eine Reaktion verwendeten, verschiedenen Edukte, und N die höchstmögliche Zahl der in einer Reaktion verwendeten verschiedenen Edukte darstellt,

wobei im ersten Cyclus des Verfahrens besonders bevorzugt alle Kombinationen von  $K = 1$  bis  $K = N$  ausgewählt werden.

Jedes dieser Experimente kann räumlich getrennt und in nachvollziehbarer Weise, z.B. in verschiedenen Reaktionsgefäßen, durchgeführt werden und insbesondere die Zuordnung der verschiedenen Kombinationen mit ihrer Kodierung zu den Positionen der Reaktionsgefäße in einer einem Algorithmus zugänglichen Form im Computer gespeichert werden.

Zumindest ein Teil der erhaltenen Reaktionsprodukte kann in einem nachfolgendem Schritt weiter chemisch modifiziert, aufgearbeitet oder für Schritt (3) in geeigneter Weise vorbereitet werden.

Eine solche chemische Modifizierung kann zum Beispiel die Abspaltung der chemischen Schutzgruppen z.B. durch Trif-

luoressigsäure, oder die Hydrierung der Produkte mit Hilfe von Wasserstoff, gegebenenfalls unter Zusatz eines Hydrierkatalysators wie z.B. Palladium auf Kohle, Platinoxid, Palladiumacetat sein, oder durch die Oxydation der Produkte mit Sauerstoff oder einem anderen Oxydationsmittel wie z.B. Brom, Wasserstoffperoxyd, tert-Butylperoxyd oder einem geeigneten Metallsalz wie z.B. Cobaltchlorid, oder einem geeigneten Metallkomplex wie z.B. Eisenhexacyanoferrat oder Chromtetraphenylporphyrinat oder durch die Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 200-600 nm erfolgen. Weiter können die Reaktionsprodukte mit einem oder mehreren Enzymen wie z.B. Oxidoreductasen, Ligasen, Peptidasen, Lipasen oder Isomerasen behandelt werden.

Die Aufarbeitung der Produkte kann in an sich bekannter Weise wie durch Chromatographie z.B. über Kieselgel oder RP-18 Kieselgel, oder Festphasenextraktion oder die Entfernung nicht umgesetzter Edukte durch Binden an einen geeigneten festen Träger wie z.B. Ionenaustauscherharze oder chemisch modifizierte Festphasenharze erfolgen, oder es können die erwarteten Produkte durch selektives Binden an einen solchen festen Träger mit anschließendem Waschen und Ablösen von diesem Träger gereinigt werden.

Durch anschließendes Lösen in einem geeigneten Lösungsmittel wie z.B. Wasser oder DMSO, kann eine Testlösung vorbereitet werden.

Die verwendeten Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbereitungen für die Testung können ebenfalls in einer für einen Algorithmus geeigneten Form,

z.B. in binärer, dezimaler oder alphanumerischer Form kodiert werden. Ein Reaktionsprodukt kann somit z.B. entweder als Kombination der Kodierung der verwendeten Edukte oder aber bevorzugt als Kombination der Kodierung der verwendeten Edukte und der Kodierung für die verwendeten Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbereitungen für die Testung kodiert werden, wobei in besonders bevorzugter Weise sowohl die verwendeten Edukte, die Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbereitungen für die Testung als auch die Reaktionsgefäße kodiert werden.

Eine solche Kodierung soll nachfolgend vereinfachend als Genom des Reaktionsproduktes bezeichnet werden.

Für das hier beschriebene Verfahren ist es nicht notwendig zu wissen, welche Reaktionen in dem einzelnen Reaktionsgefäß ablaufen können, bzw. ablaufen. Erfindungsgemäß können jedoch in allen Reaktionsgefäßen maximal E verschiedene Reaktionstypen und somit E verschiedene chemische Substanzen mit jeweils verschiedenen Grundgerüsten gebildet werden, wenn alle Edukte aus verschiedenen Substanzklassen ausgewählt werden, wie es im ersten Cyclus des Verfahrens bevorzugt ist. Das Genom eines Reaktionsproduktes kodiert in besonders bevorzugter Weise nicht, was in einem Reaktionsgefäß enthalten ist, sondern durch welche Edukte und mit welchen Arbeitsschritten das Reaktionsprodukt entstanden ist.

3) In einem dritten Verfahrensschritt werden z.B. Testlösungen der Produkte aus dem zweiten Verfahrensschritt z.B. in einem biologischen und/oder pharmakologischen und/oder



physiko-chemischen Test auf ihre biologische Aktivität, Wirksamkeit, Nebenwirkungen oder Selektivität und/oder einem anderen Testverfahren die physiko-chemischen Eigenschaften dieser Produkte untersucht.

Diese biologischen, pharmakologischen und physiko-chemischen Testverfahren sind dem einschlägig vorgebildeten Fachmann an sich bekannt.

Bevorzugt wird dabei insbesondere die Abhängigkeit der Messergebnisse von der Konzentration der im Verfahrensschritt zwei eingesetzten Edukte untersucht und festgestellt. Insbesondere wird ein Konzentrationsbereich von 0.5 bis 0.000001 mol/l, besonders bevorzugt ein Konzentrationsbereich von 100 bis 0.01 mol/l untersucht.

Der Test zur Feststellung der biologischen oder pharmakologischen Aktivität, Wirksamkeit, Nebenwirkungen oder Selektivität wird vorzugsweise mit isolierten Proteinen, Rezeptoren, Enzymen, oder Mischungen davon, Zellen, Zellsysaten, komplexen Zellsystemen, mit Organen oder Teilen davon oder mehreren Organen oder auch mit ganzen Organismen oder Membranen und gegebenenfalls unter Verwendung von für den Test notwendigen Hilfsstoffen, Substraten oder Detektionshilfsmitteln durchgeführt.

Die Testverfahren für die physiko-chemischen Eigenschaften der Produkte können zum Beispiel das Messen der Lipophilie durch den Octanol-Wasser Verteilungskoeffizienten, die Löslichkeit in Wasser, die unspezifische Proteinbindung an z.B. Rinderserumalbumin, die Bindung an die Pro-

teine des humanen Serumplasmas oder die chemische Stabilität in Krebs-Puffer beinhalten.

Die erhaltenen Testresultate werden vorzugsweise mit den Genomen der Reaktionsprodukte, bevorzugt in einer für den Algorithmus zugänglichen Form, z.B. in einem Computer Datenfile oder einer Computer Datenbank korreliert.

Erfindungsgemäß ist die Kenntnis des Inhaltes der einzelnen Reaktionsprodukte wie z.B. auch die Kenntnis der abgelaufenen chemischen Reaktion oder der vorhandenen neuen chemischen Verbindungen und ihrer Struktur nicht für das Verfahren notwendig, da der systematische Charakter der Auswahl eine systematische Auswertung der Testergebnisse zuläßt. Es kann sogar möglich sein, daß in einem oder mehreren der parallelen Reaktionsgefäße keine Reaktion abgelaufen ist, ohne daß dies ein Nachteil für das erfindungsgemäße Verfahren darstellt.

Hat man zum Beispiel alle Kombinationen von  $K=1$  bis  $K=N$  ausgewählt, werden erfindungsgemäß alle Edukte ( $K=1$ ) auf ihre biologische Wirkung hin geprüft. Alle Reaktionsprodukte, die diese Edukte enthalten, jedoch eine bessere Wirkung als diese zeigen, sollten eine neue chemische Verbindung mit besserer Wirkung enthalten. Das selbe trifft sinngemäß auch auf alle Kombinationen  $K=3$  und alle Zweierkombinationen zu. Eine Dreierkombination, die eine bessere Wirkung als die in ihr enthaltenen Zweierkombinationen, bzw. als die entsprechenden Edukte zeigt, sollte eine neue, wirksame chemische Verbindung aus einer Dreikomponentenreaktion enthalten. In der ausgeführten Weise

lassen sich ebenso alle  $K > 2$  Reaktionsprodukte analysieren.

Erfindungsgemäß enthält die Liste der Genome und der ihnen zugeordneten Testergebnisse alle für eine weitere Optimierung notwendigen Informationen.

Implizit kann das erfindungsgemäße Verfahren eine statistische Analyse der durchgeführten Reaktionen und Arbeitsschritte verwenden, wobei die bei der Auswahl der Edukte  $M$  verwendete Systematik es erlaubt, auf die genaue und explizite Kenntnis der abgelaufenen chemischen Reaktionen und Strukturen der entstandenen Verbindungen zu verzichten. So ist es beispielsweise möglich, daß unter den verwendeten Reaktionsbedingungen eine an sich wünschenswerte und bekannte Reaktion nicht abläuft, jedoch eine andere bisher nicht bekannte Reaktion eine neue chemische Verbindung liefert, die über wünschenswerte Eigenschaften, wie z.B. orale Bioverfügbarkeit verfügt. Implizit enthält so das entsprechende Genom dieses Reaktionsproduktes und die assoziierten Testresultate also auch das Verfahren, wie auch die Ausbeute und Struktur der chemischen Verbindung aus dieser neuen Multikomponentenreaktion. Dadurch wird es möglich, diese Reaktion auch ohne ihre explizite Kenntnis mit dem erfindungsgemäßen Algorithmus zu verwenden.

4) In einem vierten Verfahrensschritt werden die für die hergestellten Produkte gemessenen Testergebnisse dazu benutzt, die vorzugsweise kodierten Produkte zu bewerten und z.B. nach einer vorgegebenen Zielfunktion zu sortieren, und mindestens ein Produkt auszuwählen,

wobei diese Zielfunktion eine beliebige Kombination von gewünschten Eigenschaften für die gesuchte Zielverbindung sein kann und das Sortierkriterium aus dem Ausmaß, wie die einzelnen Produkte diese Zielfunktion erfüllen, abgeleitet werden kann. Vorzugsweise werden die Produkte nach ihrer Konzentrationsabhängigkeit bewertet.

Insbesondere können die Produkte entweder in ihrer Rangfolge sortiert oder in verschiedene Bewertungskategorien eingeteilt werden.

Die Zielfunktion kann eine beliebige Funktion sein, die aus der Kombination der gewünschten Eigenschaften in den verwendeten Testsystemen für die gesuchte Zielverbindung konstruiert wird. Sie ist das Bewertungskriterium für das Sortieren oder Kategorisieren der Genome danach, wie die einzelnen entsprechenden Produkte diese Zielfunktion erfüllen.

Bevorzugt bilden sowohl die biologische Aktivität, physiko-chemische Eigenschaften als auch weitere biologisch relevante Testresultate diese Zielfunktion.

Besonders wird bevorzugt, wenn die Konzentrationsabhängigkeit der Testergebnisse ermittelt wurde und diese in die Zielfunktion eingehen, d.h. diese Eigenschaften in unterschiedlicher und konzentrationsabhängiger Wichtung in diese Zielfunktion eingehen.

Besonders bevorzugt ist die Zielfunktion eine lineare Kombination oder ein Polynom dieser Eigenschaften mit "fuzzy" Logik Wichtungen, wobei besonders bevorzugt die "fuzzy" Logik Wichtungen einzelner Eigenschaften von dem Ausmaß der Erfüllung anderer Eigenschaften, sowie der Zahl der bereits durchlaufenen Cyclen abhängen kann.

Eine solche Zielfunktion kann somit erfindungsgemäß die Gestalt eines Programmes annehmen, welches ein Genom in Abhängigkeit von verschiedenen Eigenschaften und Bedingungen mit logischen und konditionalen Verknüpfungen unterschiedlicher Bewertungsfunktionen unterschiedlich bewertet. So können erfindungsgemäß solche Genome eine hohe Wertung erhalten, die am Anfang z.B. eine hohe orale Bioverfügbarkeit besitzen, oder nach mehreren Cyclen mehrere dieser wünschenswerten Eigenschaften aufweisen. Ebenso können erfindungsgemäß Verbindungen, die einige wünschenswerte Eigenschaften aufweisen, darüber hinaus jedoch auch Eigenschaften besitzen, die als nicht wünschenswert bezeichnet worden sind, wie z.B. ein gemessener logD Wert für die Lipophilie von über 5, eine negative Wertung erhalten, wobei die wünschenswerten Eigenschaften nicht mehr betrachtet werden.

5) In einem fünften Verfahrensschritt werden die Edukte bestimmt, die zu dem oder den im 4. Schritt bewerteten und ausgewählten Produkt(en) geführt haben.

Es ist in diesem Schritt nicht nötig, die Edukte selbst zu analysieren oder ihre Struktur aufzuklären: Vielmehr reicht eine Identifizierung der Edukte anhand einer gege-

benenfalls eingesetzten Kodierung, da jedem Edukt ein spezifischer Code zugeordnet werden kann.

6) In einem sechsten Verfahrensschritt wird erfindungsgemäß aufgrund der gefundenen Ergebnisse z.B. mit einem Algorithmus eine neue Menge von Edukten ausgesucht. Ferner wird eine Liste neu durchzuführender Experimente erstellt, und es werden die Edukte in entsprechend ausgewählten Multikomponenten-Kombinationen kombiniert und zur Reaktion gebracht, wobei jedoch vorzugsweise ein bereits durchgeführtes Experiment nicht wiederholt vorgeschlagen wird.

Dazu wird von mindestens einem, vorzugsweise von zwei der in Verfahrensschritt (5) bestimmten Edukte eine Variante oder Modifikation in dem Sinne bereitgestellt, daß in diesem Edukt mindestens ein Substituent aufgetauscht und/oder mindestens ein (zusätzlicher) Substituent eingeführt und/oder ein vorhandener Substituent durch ein H-Atom ersetzt wird.

Vorzugsweise werden pro Cyclus mehr als ein Edukt und/oder mehr als ein Reaktionsparameter wie die Konzentration eines Edukts oder die Reaktionstemperatur etc. variiert.

Aufgrund an sich bekannter kombinatorischer Optimierungsverfahren, vgl. Cook, W. J.; Cunningham, W. H.; Pulleyblank, W. R. und Schrijver, A. Combinatorial Optimization, Wiley 1997; Philip M. Dean und Richard A. Lewis (Ed.) Molecular Diversity in Drug Design, Kluwer Academic

Publishers, 1999, ist es möglich, veränderte Produkteigenschaften den variierten Edukten und/oder Reaktionsparametern zuzuordnen.

Bevorzugt werden die als am besten bewerteten Genome des vorangegangenen Cyclus für die Generierung der neuen Genome verwendet.

Als Algorithmus kann z.B. ein kombinatorisches Optimierungsverfahren wie ein genetischer Algorithmus oder ein Mustererkennungsverfahren, wie zum Beispiel ein neuronales Netz oder eine Kombination eines genetischen Algorithmus mit einem neuronalen Netz verwendet werden, wobei bevorzugt ein genetischer Algorithmus oder ein Mustererkennungsverfahren, wie zum Beispiel ein neuronales Netz oder eine Kombination eines genetischen Algorithmus mit einem neuronalen Netz implizit oder explizit das Auftreten gewünschter Eigenschaften mit den Bestandteilen des Produkt Genoms der vorhergehenden Generation korreliert.

Bevorzugt werden diejenigen Bestandteile der Genome der getesteten Produkte, welche mit höherer Wahrscheinlichkeit mit den gewünschten Eigenschaften explizit oder implizit korrelieren, mit höherer Wahrscheinlichkeit für die Generierung der neuen Genome verwendet,

wobei bevorzugt solche Genome, deren Produkte keine gute Bewertung erhalten haben nicht für die Generierung neuer Genome verwendet werden, und

bevorzugt und zufällig einzelne Bestandteile der neuen Genome durch einen Zufallsgenerator aus der Zahl der möglichen Kodierungen ausgewählt werden.

Bevorzugt und zufällig werden einzelne Bestandteile der neuen Genome durch einen Zufallsgenerator aus dem Genom entfernt oder hinzugefügt,

wobei bevorzugt die Zuordnung der Wahrscheinlichkeit einer zufälligen Auswahl eines solchen Bausteins vom Typ dieses Bausteins abhängen kann,

wobei besonders bevorzugt die Genome zufällig in eine oder mehrere Gruppen, sogenannte Populationen eingeteilt werden.

Besonders bevorzugt werden die Genome einer Gruppe nur für die Generierung neuer Genome einer neuen Gruppe von Genomen benutzt und somit wird jede dieser Populationen eine neue Population erzeugen,

wobei bevorzugt nach einer beliebigen Zahl von Cyclen alle Populationen von Genomen in eine neue Anzahl von Populationen mit gleicher oder einer veränderten Zahl an Genomen aufgeteilt werden kann.

Insbesondere bevorzugt wird diese Neuaufteilung vorgenommen, wenn in einer Population ein Produkt besonders wünschenswerte Eigenschaften aufweist.

Als Bestandteile der Genome werden erfindungsgemäß die unterschiedlichen Kodierungen der Edukte, der Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbe-



reitungen für die Testung als auch die Reaktionsgefäße definiert.

Dieser Verfahrensschritt stellt erfindungsgemäß eine Übertragung der natürlichen Evolution von Biopolymeren wie DNA, RNA oder Peptiden auf die Chemie der Multikomponentenreaktionen in Verbindung mit den Eigenschaften der durch sie erzeugten chemischen Verbindungen dar. Erfindungsgemäß wird in diesem Schritt eine deutlich gesteigerte Anzahl von Reaktionsmöglichkeiten ermöglicht. Da durch den erfindungsgemäßen Algorithmus beliebig Bausteine des Genoms gelöscht oder hinzugefügt werden können, sind z.B. Mehrfachverwendungen eines Bausteins, wie zum Beispiel eines Eduktes, eines Katalysators usw. möglich.

Die Besonderheit des Algorithmus liegt darin, daß zum einen solche Genome, d.h., solche Kombinationen von Edukten, Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbereitungen für die Testung bevorzugt werden, deren Produkte auch gewünschte Eigenschaften aufweisen, zum anderen die für die tatsächliche Herstellung dieser zwar unbekannten Verbindungen auch die besten Reaktionsbedingungen implizit ermittelt werden. Obwohl die zu diesem Produkt führende Reaktion nicht bekannt sein muß, wird diese optimiert, da sich z.B. eine höhere Ausbeute an dem durch diese Reaktion entstehendem Produkt durch eine Verbesserung der gewünschten Eigenschaften zeigt. Durch dieses Eigenschaft des erfindungsgemäßen Verfahrens erhält man so neben einem Produkt mit den gewünschten Eigenschaften auch gleichzeitig dessen optimale Herstellung durch eine Multikomponentenreaktion.

Wahlweise können die Edukte und/oder Reaktionen/Reaktionsbedingungen jeweils einzeln oder mehrere oder alle zusammen variiert werden.

7) In einem siebten Verfahrensschritt werden die im sechsten Verfahrensschritt bereitgestellten Edukte gegebenenfalls zusammen mit den übrigen im Verfahrensschritt (5) bestimmten Edukten umgesetzt:

Ist z.B. nur ein Edukt im Verfahrensschritt (6) variiert worden, so wird dieses Edukt vorzugsweise mit den übrigen in Verfahrensschritt (5) bestimmten Edukten außer dem Edukt umgesetzt, das in Verfahrensschritt (6) variiert wurde.

Wurden im Verfahrensschritt (5) z.B. die Edukte  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$ ,  $E_4$  und  $E_5$  bestimmt, und wurde  $E_2$  im Verfahrensschritt (6) zu  $E_2'$  variiert, so wird im Verfahrensschritt (7)  $E_2'$  mit  $E_1$ ,  $E_3$ ,  $E_4$  und  $E_5$  umgesetzt. Vorzugsweise wird bei der Umsetzung pro Edukt-Typ nur ein Molekül eingesetzt, d.h. z.B. nur ein Amin, ein Isocyanid, eine Carbonsäureverbindung.

8) In einem achten Verfahrensschritt werden die Verfahrensschritte vier bis sieben solange wiederholt, bis ein Reaktionsprodukt gefunden wird, welches die Kriterien der Zielfunktion erfüllt,

wobei häufig bis zu 50, bevorzugt bis zu 30 Cyclen benötigt werden, um ein solches Produkt zu finden.

Die Wahrscheinlichkeit der Auffindung eines solchen Produktes kann bereits nach 2 bis 6 Cyclen abgeschätzt werden, so daß ein wenig aussichtsreicher Weg bereits in einem frühen Stadium abgebrochen werden kann.

Bevorzugt wird die Differenz des durchschnittlichen Ausmaßes der Erfüllung der Zielkriterien durch die Produkte einer Genompopulation aus einem Cyclus  $x$  und das durchschnittliche Ausmaß der Erfüllung der Zielkriterien durch die Produkte einer Genompopulation aus einem späteren Cyclus  $x+i$  für diese Abschätzung verwendet, wobei  $i$  eine ganze natürliche Zahl ist.

Diese Differenz kann dazu dienen, eine neue Anzahl Edukte auszuwählen und das erfindungsgemäße iterative Verfahren neu zu beginnen, besonders, wenn diese Differenz klein ist.

Durch die Verfahrensschritte eins bis acht werden auf neuartige und überraschende Weise verschiedene Probleme bei der Auffindung und Optimierung neuer chemischer Verbindungen gleichzeitig gelöst. Durch das Kombinieren von Edukten aus verschiedenen Substanzklassen unter verschiedenen Reaktionsbedingungen werden neue Multikomponentenreaktionen auf ihre Eignung für die Herstellung neuer chemischer Verbindungen untersucht, wobei solche Multikomponentenreaktionen bevorzugt werden, die Produkte mit gewünschten Eigenschaften ergeben. Weiterhin werden diese Produkte erfindungsgemäß durch die mögliche Verwendung von Edukten aus der selben Substanzklasse, die für diese Multikomponentenreaktionen notwendig sind, variiert und auf ihre Eigenschaften geprüft bzw. optimiert. Weiterhin

werden diese neuen Multikomponentenreaktionen erfindungsgemäß selbst optimiert, wenn die Reaktionsbedingungen Bestandteile der entsprechenden Genome sind.

9) In einem neunten Verfahrensschritt werden die in dem Reaktionsprodukt, welches die gewünschten Eigenschaften in den Testungen gezeigt hat, enthaltenen chemische Verbindungen auf an sich bekannte Weise, wie zum Beispiel durch Chromatographie oder Kristallisation gereinigt und deren Struktur mit bekannten Verfahren wie Massenspektroskopie oder NMR Spektroskopie bestimmt.

Das neue Verfahren wird beispielhaft für die Auffindung und Herstellung einer sehr großen Vielfalt von nicht-natürlichen antibiotischen, immunsuppressiven, anti-neoplastischen oder antihelminthischen polyketoider Verbindungen mit gewünschten Eigenschaften beschrieben, um die Vorteile gegenüber bestehenden Verfahren zu verdeutlichen.

Polyketide sind eine strukturell hochdiverse Familie von Naturstoffen, die in der Natur durch einen gemeinsamen Biosyntheseweg aufgebaut werden. In der Familie der Polyketide wurden außergewöhnlich viele Substanzen mit interessanten biologischen Aktivitäten gefunden. So stellen viele Vertreter der Polyketide Krebsmedikamente, Antibiotika, Antihelminthika, Immunsuppressiva o.ä. dar. Prominente, im Handel befindliche Beispiele sind die Tetracyclinantibiotika, FK 506 und Rapamycin, Adriamycin und Epothilon, oder Monensin (Abb. 1).

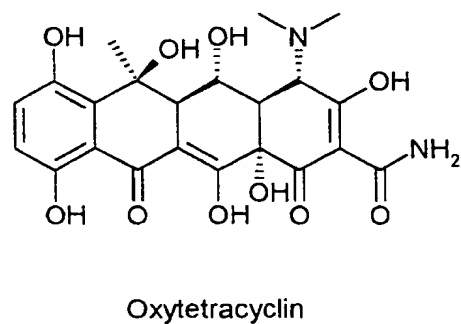
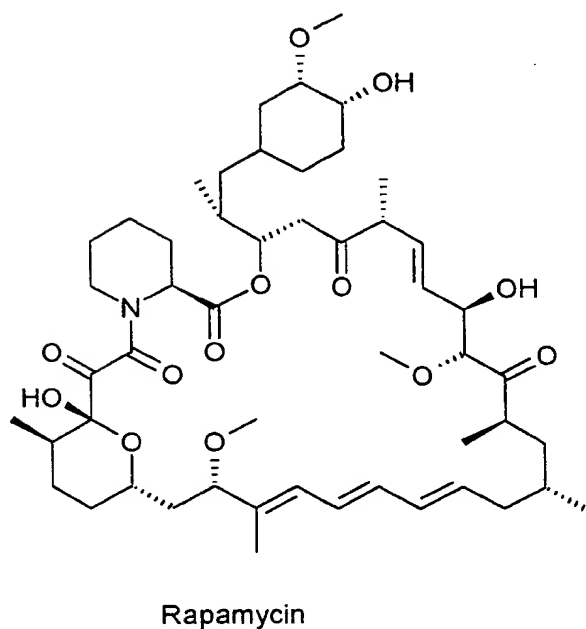
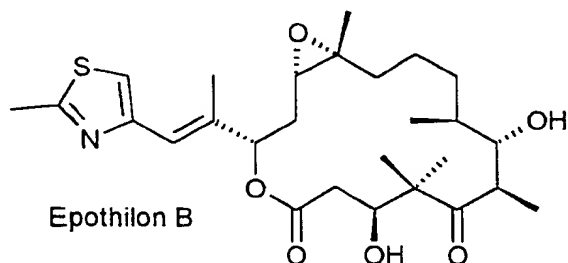
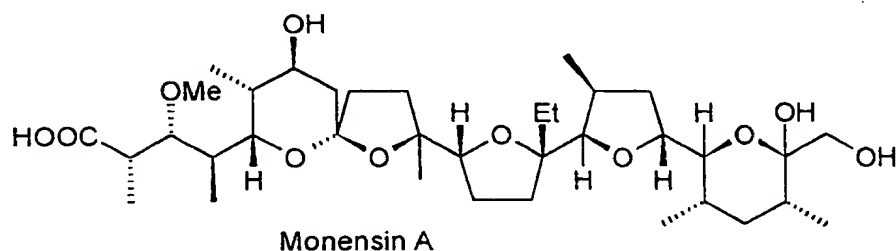
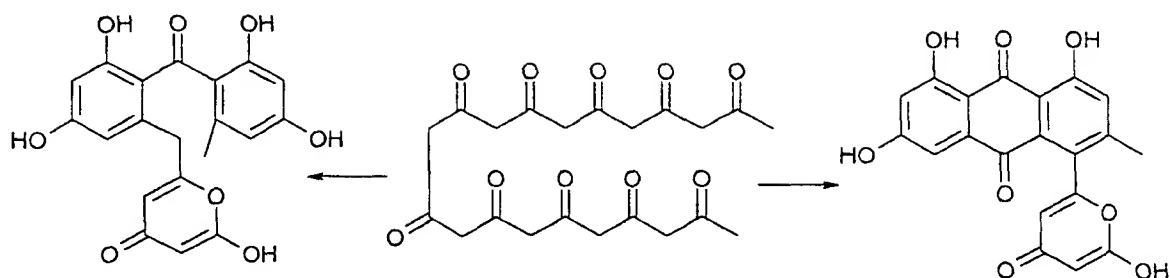


Abbildung 1: Verschiedene Strukturen von Polyketiden.

Polyketide werden von fast allen Organismenklassen gebildet, vornehmlich aber von mycelbildenden Bakterien der Klasse Actinomycetes.

In der Natur werden Polyketide über den sog. Polyketidweg synthetisiert. Dabei werden putative Polyketide als Zwischenstufe der Biosynthese angenommen (Abb.2).



**Abbildung 2:** Ein Polyketidvorläufer, der je nach Cyclisierungsmodus zu unterschiedlichen Produkten führt.

Polyketidsynthasen (PKSs) sind multifunktionelle Enzymkomplexe, die mit den Fettsäuresynthasen verwandt sind. Die strukturelle Vielfalt der Polyketide kommt durch den repetitiven Aufbau via decarboxylierender Claisenkondensation zwischen verschiedenen Thioestern (meist Acetyl-, Propionyl-, Butyryl-, Malonyl-, Methylmalonyl) zu Polyketiden und deren Modifikationen wie z.B. Reduktion zu Alkoholen, Dehydratation etc. zustande. Jedes Produkt des Polyketidsyntheseweges kommt durch eine charakteristische Anzahl von Cyclen zustande, wobei es am Ende der Synthese, häufig unter Cyclisierung von der PKS abgespalten wird.

Somit kommt die Diversität dieser Substanzgruppe durch den Starterthioester, die reduktiven Cyclen und die Zahl der decarboxylierenden Kondensationscyclen zustande.

Man unterscheidet zwischen zwei Klassen von PKSs. Die erste Klasse vom Typ I ist in der Lage, komplexe Macrolide wie z.B. Erythromycin zu synthetisieren. Die zweite Klasse vom Typ II ist in der Lage, aromatische Produkte zu synthetisieren.

In letzter Zeit ist es einigen Arbeitsgruppen gelungen, über genetisch manipulierte PKSs neuartige, in der Natur

bisher nicht gefundene Polyketide zu synthetisieren (Khosla, Leadley, Katz, Chem. Rev. 97, 97,7).

Auch die chemische Synthese vieler Polyketide wurde und wird intensiv von vielen Arbeitsgruppen bearbeitet (Harris, T.M., Harris, C.M., *Pure & Appl. Chem.*, 1986, 58, 283 - 294. Oder Nicolaou, K. C.; Vourloumis, D.; Li, T.; Pastor, J.; Winssinger, N.; He, Y.; Ninkovic, S.; Sarabia, F.; Vallberg, H.; Roschangar, F.; King, N. P.; Finlay, M.R.V.; Giannakakou, P.; Verdier-Pinard, P.; Hamel, E. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1997, 36, 2097). Dabei handelt es sich in allen Fällen um vielstufige, zeitaufwendige und wenig variable Synthesen mit geringen Gesamtausbeuten. Weiterhin werden kombinierte biosynthetische - synthetische Wege verfolgt, wobei fermentierte Polyketide nachträglich chemisch modifiziert werden. Keine der chemischen Ansätze erlaubt die Synthese von Polyketiden in hinreichender Vielfalt und mit einer hinreichend kleinen Anzahl von Schritten.

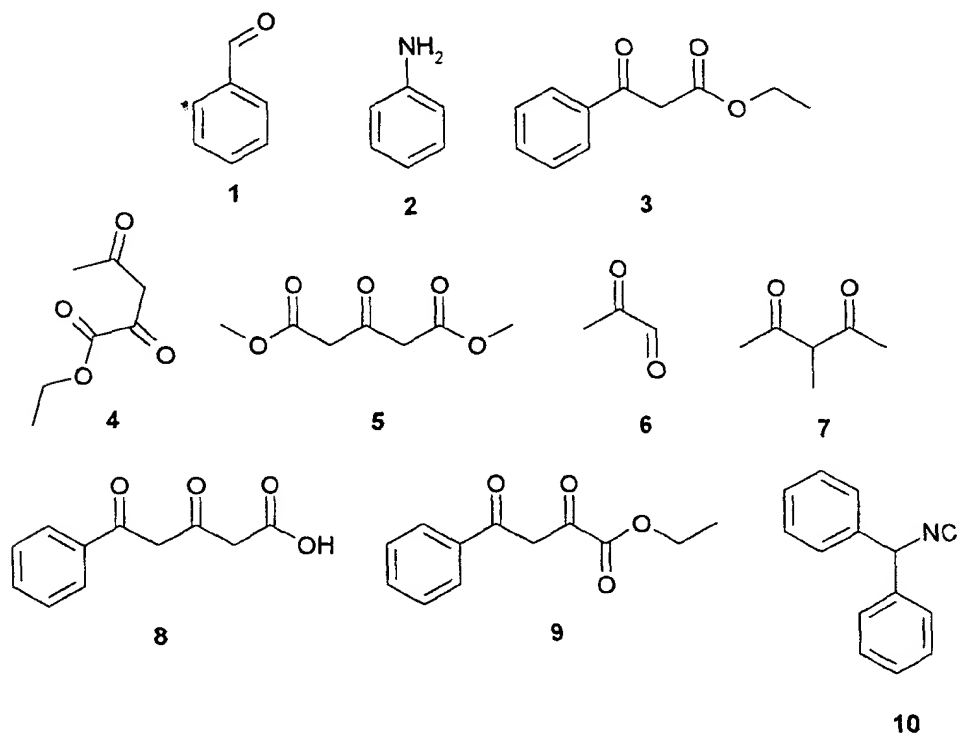
Deshalb sind alle bisher beschrittenen chemischen Wege langwierig, schwierig, teuer und nicht geeignet für ein schnelles, effizientes und rationelles Auffinden neuer polyketoider Wirkstoffe.

### Beispiele:

Das neue Verfahren wird *beispielhaft* beschrieben zur Herstellung einer sehr großen Vielfalt von unnatürlichen antibiotischen, immunsuppressiven, antineoplastischen oder antihelminthischen Polyketiden.

**Beispiel 1:** Herstellung einer Substanzbibliothek unterschiedlicher Multikomponentenreaktionen mit antibakterieller Wirkung.

Es werden 10 Edukte 1-10 (s. Abb. 3) mit verschiedenen funktionellen Gruppen ausgewählt: Benzaldehyd 1, Anilin 2, 3-Phenyl-3-keto-propionsäure Ethylester 3, 2,4-Diketo-valeriansäure Ethylester 4, 3-Keto-glutarsäure Dimethylester 5, 2-Keto-propionaldehyd 6, 3-Methyl-2,4-diketo-pentan 7, 3,5-Diketo-5-phenyl-valeriansäure 8, 2,4-Diketo-phenyl-buttersäure 9 und Diphenylmethanonitril 10.



**Abbildung 3:** Die ausgewählten Edukte für eine kombinatorische Bibliothek von 1023 verschiedenen Multikomponentenreaktionen.

Die systematische Variation der Edukte von  $K=2$  bis  $K=10$  liefert nach Gleichung (1) 1013 verschiedene Möglichkeiten die Edukte zu kombinieren:



Aufstellung 1:

Anzahl der Reaktanden	Anzahl der Kombinationen
2	45
3	120
4	210
5	252
6	210
7	120
8	45
9	10
10	1

$$\Sigma = 1013 \text{ Reaktionen}$$

Durch die Auswahl dieser Edukte werden an sich bekannte Reaktionen ermöglicht, wie zum Beispiel die Ugi 4-CR und 3-CR Reaktion, sowie verschiedene Aldol- und Claisenreaktionen, als auch Cyclisierungsreaktionen nach Abbildung 2.

Die 10 Edukte wurden als 0.05M Lösungen in Ethanol für die Kombination der einzelnen Reaktionen vorgelegt. Die 1013 verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten wurden unter vier verschiedenen Reaktionsbedingungen durchgeführt (Set A, B, C, D). Für die 4\*1013 verschiedenen Reaktionsansätze wurden jeweils 20 µl der entsprechenden Eduktlösung dispensiert. Das Reaktionsset A aus 1013 parallelen Ansätzen wurde ohne weitere Zusätze durchgeführt. Für das Reaktionsset B erfolgte zusätzlich eine Zugabe von jeweils 10 µl einer 0.2M Lösung von p-Toluensulfonsäure in EtOH. Für das Reaktionsset C erfolgte zusätzlich eine Zugabe von 10 µl einer 0.2M Lösung von Triethylamin in EtOH. Für das Reaktionsset D erfolgte zusätzlich eine Zugabe von 10 µl einer 0.2M Lösung von Kaliumcarbonat in einem 2:1=EtOH:Wasser-Gemisch.

Nach beendeter Zugabe wurden die insgesamt 4052 Reaktionen verschlossen bei Raumtemperatur 24 Stunden stehengelassen. Danach wurde das Lösungsmittel bei Raumtemperatur abgedampft. Die Rohprodukte wurden mit jeweils 250 µl DMSO verdünnt und jeweils 10 µl dieser Lösung wurde mit 140µl Wasser verdünnt. Diese Lösungen wurden auf ihre inhibitorische Wirkung gegenüber grampositiven und gramnegativen Bakterien und Hefestämmen getestet. Die Testresultate geben Auskunft über solche Reaktionsansätze, bzw. Reaktionstypen, welche für eine weitere Optimierung von Interesse sind. In Tabelle 1 sind die Testresultate beispielhaft für die Wirkung gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 und *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 aufgeführt. Die Testkeime wurden über Nacht in CASO-Bouillon (Bakterien) bei 35° C bzw. Sabourad-Bouillon (Hefen) bei 22° C angezogen. Die Keimsuspension wurde abzentrifugiert, das Pellet in frischem Medium resuspendiert und für weitere 2 Stunden inkubiert. Anschließend wurde das Pellet in 0.9%-iger NaCl Lösung resuspendiert und die Zellzahl anhand der Standard-Kurven auf etwa  $10^8$  KBE/ml (Bakterien) bzw.  $10^7$  KBE/ml (Hefen) eingestellt.

Die so erhaltenen Suspensionen wurden anschließend in CASO-Bouillon (Bakterien) bzw. Sabourad-Bouillon auf etwa  $10^6$  KBE/ml verdünnt. 15 µl der Lösung der Reaktionsprodukte wurde mit 100 µl dieser Keimlösungen angeimpft. Sofort nach der Inokulation, sowie 7 und 22 Stunden Inkubation der Platten wurden diese in einem Platten-Reader (Bio-tek EL 311 Autoreader) bei 550 nm vermessen.

Die 1013 verschiedenen Kombinationen der Edukte 1-10 sind in Aufstellung 1 aufgeführt, die inhibitorische Aktivität der besten Edukt-Kombinationen des Reaktionssets A nach

einem Cyclus des erfindungsgemäßen Verfahrens gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* sind in Tabelle 1 und gegenüber *Staphylococcus aureus* in Tabelle 2 aufgeführt.

Von den besten Kombinationen können nun z.B. nach einem der vorstehend bezeichneten Algorithmen die ausgesucht werden, die in dem nächsten Cyclus eingesetzt werden sollen.

Auf analoge Weise werden die Resultate der Reaktionssets A, B, C und D miteinander verglichen und entsprechend bei dem nächsten Cyclus des Verfahrens die besten Reaktionsvarianten berücksichtigt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß ein Verfahren zur algorithmischen Auffindung und Herstellung von biologisch wirksamen chemischen Verbindungen beschrieben wird. Das Verfahren besteht aus der (1) Herstellung einer algorithmischen Bibliothek von unterschiedlichen Multikomponentenreaktionen, ausgehend von einer Bibliothek geeigneter und diverser Typen von chemischen Ausgangsstoffen, der (2) biologischen Testung dieser Bibliothek, der (3) Identifizierung geeigneter Multikomponentenreaktionen aus diesem Raum der möglichen Reaktionen, der (4) Auswahl einer Vielzahl von chemischen Ausgangsstoffen solcher Typen, die für die identifizierten und geeigneten Multikomponentenreaktionen benötigt werden, die (5) Auffindung von optimalen Kombinationen aus dem damit konstruierten chemischen Raum dieser geeigneten Multikomponentenreaktionen durch die (6) algorithmische Herstellung und biologische Testung von Verbindungen dieser Bibliothek. Das Verfahren wird am Beispiel der Auffindung neuer antibio-

tisch wirksamer polyketoidartiger Verbindungen beispielhaft erläutert.

**Tabelle 1:** Die Inhibitorische Aktivität des Reaktionssets A der 1013 verschiedenen Reaktionen aus den Edukten 1-10 gegenüber *Pseudomonas aeruginosa*.

**Tabelle 2:** Die Inhibitorische Aktivität des Reaktionssets A der 1013 verschiedenen Reaktionen aus den Edukten 1-10 gegenüber *Staphylococcus aureus*.

**Tabelle 3:** Reihenfolge der inhibitorischen Aktivität der besten Edukt-Kombinationen des Reaktionssets A nach einem Cyclus des erfindungsgemäßen Verfahrens gegenüber *Pseudomonas aeruginosa*.

**Tabelle 4:** Reihenfolge der inhibitorischen Aktivität der besten Edukt-Kombinationen des Reaktionssets A nach einem Cyclus des erfindungsgemäßen Verfahrens gegenüber *Staphylococcus aureus*.

### Patentansprüche

1. Verfahren für die schnelle und effiziente Auffindung und Herstellung von neuen Verbindungen, gekennzeichnet durch
  - (1) Auswahl von M unterschiedlichen für Multikomponentenreaktionen (MCRs) geeigneten Edukten,
  - (2) Umsetzung von jedem Edukt mit einem anderen oder jeder möglichen Kombination von bis zu M-1 anderen gemäß (1) ausgewählten Edukten.
  - (3) Analyse der Produkte,
  - (4) Bewertung der Produkte und Auswahl mindestens eines Produkts,
  - (5) Bestimmung der Edukte, die zu dem oder den in (4) ausgewählten Produkt(en) geführt haben, und
  - (6) Bereitstellung von mindestens einer Variante von mindestens einem der Edukte, die in (5) bestimmt wurden,
  - (7) Umsetzung der in (6) bereitgestellten Edukte gegebenenfalls mit den übrigen in (5) bestimmten Edukten im Rahmen einer MCR,
  - (8) Wiederholung der Schritte (4) bis (7) bis mindestens ein Produkt gefunden wird, das die gewünschte(n) Eigenschaft(en) aufweist, und

- (9) gegebenenfalls Isolierung und Charakterisierung des Produkts.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß  $M \leq 40$  ist.
  3. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in (1) und/oder in (6) auch für MCRs geeignete Reaktionsbedingungen ausgewählt werden.
  4. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in (2) jedes Edukt mit jeder möglichen Kombination von 2 bis zu  $M-1$  anderen, gemäß (1) ausgewählten Edukten umgesetzt wird.
  5. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Analyse gemäß (3) eine biologische und/oder pharmakologische und/oder physikochemische Analyse ist.
  6. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in (4) alle Produkte bewertet werden.
  7. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in (4) auch die Reaktionsbedingungen zur Herstellung der Produkte bewertet werden.
  8. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Umsetzung gemäß (7)

der in (6) bereitgestellten Edukte gegebenenfalls mit den übrigen in (5) bestimmten Edukten außer dem (den) Edukt(en) erfolgt, deren Varianten in (6) bereitgestellt wurden.

9. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß bei jeder Umsetzung gemäß (7) pro Edukt-Typ nur ein Molekül ausgewählt wird.
10. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Edukte in der Organischen Chemie übliche funktionelle Gruppen wie -NC, -CO-, -CS-, -CN, -OCN, -NCO, -NO, -NO<sub>2</sub>, -ONO<sub>2</sub>, -CHO, -COOR, -COSR, -CSSR, -COCOOR, -SCN, -NCS, -Halogen, -N<sub>3</sub>, -NNNR, -OR, -SR, -OCOOR, -SCOOR, -NRCOOR', -OCSOR, -SCSOR, -NRCSOR', -OCSSR, -SCSSR, -NRCSSR', -OCONR'R, -SCONR'R, -NRCONR'R'', -NRR', -NRR'NR'R'', -CNNRR', -CNNRR'HX, -NRCONR'R'', -NRCSNR'R'', -RCOCR'R'', -RCSCR'R'', -COCRR'Halogen, -RCNR'CR'' wobei R, R' und R'' H oder Alkyl, Aryl, Aralkyl, Hetaryl, oder Hetarylalkyl aufweisen.
11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei die funktionellen Gruppen Epoxygruppen oder Carbene oder die ungesättigten vinylogenen Varianten Alken, Alkin, Aryl Gruppen oder entsprechende Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Penta- oder Hexacarbonyl Varianten dieser Gruppen sind.
12. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, wobei zwei, drei, vier oder mehrere funktionelle Gruppen in einem oder mehreren Edukten in geeigneter Kombination gleichzeitig vorliegen.

13. Verfahren nach Anspruch 10, wobei die Edukte für Multikomponentenreaktionen besonders geeignete Edukte sind, wie alpha-Haloketone, Ester, Carbonsäuren, Thiocarbonsäuren, Aldehyde, Amine, Ketone, Isonitrile, Nitrile, alpha-Ketosäuren, alpha-Ketoester, und deren Derivate und alpha-beta ungesättigte Varianten, sowie Kombinationen davon.
14. Verfahren nach Anspruch 4, wobei die Edukte entsprechende Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Penta- oder Hexacarbonyl Varianten der funktionellen Gruppen aufweisen.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 14, wobei ein Teil der funktionellen Gruppen der Edukte mit in der Organischen Chemie üblichen Schutzgruppen versehen sind.
16. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die ausgewählten Edukte in einer für einen Algorithmus zugänglichen Form kodiert werden, wobei den ausgewählten Edukten entweder zufällig oder systematisch eindeutige binäre, dezimale oder alphanumerische Kodierungen zugeordnet werden.
17. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei einem Edukttyp einer bestimmten chemischen Klasse eine charakteristische Kodierung für diese chemische Klasse zugeordnet wird.



18. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei im ersten Cyclus des Verfahrens nur solche Edukte ausgewählt werden, die zu verschiedenen chemischen Klassen gehören.
19. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Edukte nach einem Algorithmus ausgewählt werden.
20. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei nach einem Algorithmus ausgewählte Multikomponenten-Kombinationen MKK(K) der verschiedenen ausgewählten Edukte unter in der Organischen Chemie üblichen Bedingungen gleichzeitig oder in sequentieller Reihenfolge zur Reaktion gebracht werden.
21. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei jede ausgewählte Kombination der Edukte in einem räumlich getrennten gegebenenfalls kodierten Reaktionsgefäß zur Reaktion gebracht wird.
22. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei zumindest ein Teil der erhaltenen Reaktionsprodukte in einem nachfolgendem Schritt chemisch modifiziert, aufgearbeitet oder für Schritt (3) in geeigneter Weise vorbereitet wird.
23. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei zusätzliche Hilfsmittel oder Katalysatoren wie z.B. Lewis-Säuren wie Bortrifluorid-etherat, Zink-

chlorid, Ytterbiumtriflat, Eisenchlorid, andere Säuren wie z.B. Salzsäure, para-Toluolsulfonsäure, Essigsäure oder Basen wie z.B. Kaliumcarbonat, Triethylamin, Cäsiumcarbonat, oder wasserentziehende Mittel wie Molsiebe oder Orthoester zum Einsatz kommen.

24. Verfahren nach Anspruch 22 oder 23, wobei die chemische Modifizierung eine Abspaltung der chemischen Schutzgruppen z.B. durch Trifluoressigsäure ist, oder die Hydrierung der Produkte mit Wasserstoff gegebenfalls unter Zusatz eines Hydrierkatalysators wie Palladium auf Kohle, Platinoxid, Palladiumacetat erfolgt, oder die Oxydation der Produkte mit Sauerstoff oder einem anderen Oxydationsmittel wie z.B. Brom, Wasserstoffperoxid, tert-Butyl-peroxid oder einem geeigneten Metallsalz wie Cobaltchlorid, oder einem geeigneten Metallkomplex wie z.B. Eisenhexacyanoferrat oder Chromtetraphenylporphyrinat, oder durch die Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 200-600 nm erfolgt, oder die Reaktionsprodukte mit mindestens einem Enzym wie z.B. Oxidoreductasen, Ligasen, Peptidasen, Lipasen oder Isomerasen behandelt werden.
25. Verfahren nach Anspruch 22, wobei die Aufarbeitung der Produkte in an sich bekannter Weise durch Chromatographie z.B. über Kieselgel oder RP-18 Kieselgel, oder Festphasenextraktion oder die Entfernung nicht umgesetzter Edukte durch Binden an einen geeigneten festen Träger wie z.B. Ionenaustauscherharze oder chemisch modifizierte Festphasenharze, oder durch selektives Binden der Produkte an einen geeigneten festen Träger erfolgt.

26. Verfahren nach Anspruch 20 oder 23, wobei den Reaktionsbedingungen und verwendeten Hilfsmittel oder Katalysatoren entweder zufällig oder systematisch eindeutige binäre, dezimale oder alphanumerische Kodierungen zugeordnet werden.
27. Verfahren nach Anspruch 21, wobei die Zuordnung der verschiedenen kodierten Kombinationen zu den Reaktionsgefäßen entweder zufällig oder systematisch binär, dezimal oder alphanumerisch kodiert wird.
28. Verfahren nach Anspruch 22 oder 25, wobei der Aufarbeitung der Produkte entweder zufällig oder systematisch binäre, dezimale oder alphanumerische Kodierungen zugeordnet werden.
29. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei sowohl die verwendeten Edukte, Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbereitungen für die Testung als auch die Reaktionsgefäße kodiert werden.
30. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die MCR eine Passerini oder Ugi Multikomponentenreaktion mit bis zu 20 Komponenten, vorzugsweise mit 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 oder 12 Komponenten ist.
31. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Produkte in einem biologischen und/oder phar-

makologischen Test auf ihre pharmakologische bzw. biologische Aktivität, Wirksamkeit, Nebenwirkungen und/oder Selektivität und/oder in einem weiteren Testverfahren auf ihre physiko-chemischen Eigenschaften untersucht werden.

32. Verfahren nach Anspruch 31, wobei die Abhängigkeit der Meßergebnisse von der Konzentration der in Verfahrensschritt zwei eingesetzten Edukte festgestellt wird, wobei die Konzentration bevorzugt in einem Bereich von 0.5 bis 0.000001 mol/l liegt.
33. Verfahren nach Anspruch 32, wobei die Konzentration in einem Bereich von 100 bis 0.01 mol/l liegt.
34. Verfahren nach einem der Ansprüche 31 bis 33, wobei der Test zur Feststellung der biologischen oder pharmakologischen Aktivität, Wirksamkeit, Nebenwirkungen oder Selektivität mit isolierten Proteinen, Rezeptoren, Enzymen, oder Mischungen davon, Zellen, Zelllysaten, komplexen Zellsystemen, mit Organen oder Teilen davon oder mehreren Organen oder mit ganzen Organismen oder Membranen und gegebenenfalls unter Verwendung von für den Test notwendigen Hilfsstoffen, Substraten oder Detektionshilfsmitteln durchgeführt wird.
35. Verfahren nach einem der Ansprüche 31 bis 33, wobei die Testverfahren für die physiko-chemischen Eigenschaften der Produkte das Messen der Lipophilie durch den Octanol-Wasser Verteilungskoeffizienten, die Lös-

lichkeit in Wasser, die unspezifische Proteinbindung an z.B. Rinderserumalbumin, die Bindung an die Proteine des humanen Serumplasmas und/oder die chemische Stabilität in Krebs-Puffer umfassen.

36. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die erhaltenen Testresultate mit den Kodierungen der einzelnen Reaktionsprodukte in Beziehung gesetzt werden.
37. Verfahren nach Anspruch 36, wobei die Testresultate in einer für einen Algorithmus zugänglichen Form, z.B. in einem Computer Datenfile oder einer Computer Datenbank gespeichert werden.
38. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Liste der Kodierungen und der ihnen zugeordneten Testergebnisse alle für eine weitere Optimierung notwendigen Voraussetzungen erfüllen.
39. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Kodierungen der hergestellten und getesteten Produkte bewertet werden, wobei die Genome nach einer vorgegebenen Zielfunktion entweder in ihrer Rangfolge sortiert oder in verschiedene Bewertungskategorien eingeteilt werden.
40. Verfahren nach Anspruch 39, wobei die Zielfunktion eine beliebige Funktion sein kann, die aus der Kombi-

nation der gewünschten Eigenschaften der Zielverbindungen konstruiert wird.

41. Verfahren nach Anspruch 38 oder 40, wobei das Bewertungskriterium für das Sortieren oder Kategorisieren der Genome aus dem Ausmaß, wie die einzelnen Produkte die Zielfunktion erfüllen, abgeleitet wird.
42. Verfahren nach einem der Ansprüche 39 bis 41, wobei die biologische Aktivität, die physiko-chemischen Eigenschaften und gegebenenfalls weitere biologisch relevante Testresultate die Zielfunktion bilden.
43. Verfahren nach einem der Ansprüche 39 bis 42, wobei die Konzentrationsabhängigkeit der Testergebnisse in die Zielfunktion eingeht.
44. Verfahren nach einem der Ansprüche 40 bis 43, wobei die Eigenschaften in unterschiedlicher und konzentrationsabhängiger Wichtung in diese Zielfunktion eingehen, wobei insbesondere die Zielfunktion eine lineare Kombination oder Polynom dieser Eigenschaften mit „fuzzy“-Logik Wichtungen ist.
45. Verfahren nach einem der Ansprüche 40 bis 44, wobei die „fuzzy“-Logik Wichtungen einzelner Eigenschaften von dem Ausmaß der Erfüllung anderer Eigenschaften, sowie der Zahl der bereits durchlaufenen Cyclen abhängt.

46. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die bewerteten Kodierungen der einzelnen Produkte dazu benutzt werden, mit einem kombinatorischen Optimierungsverfahren, wie z.B. einem genetischen Algorithmus oder einem Mustererkennungsverfahren, einem neuronalen Netz oder einer Kombination eines genetischen Algorithmus mit einem neuronalen Netz eine neue Menge von gegebenenfalls kodierten Edukten, Reaktionsbedingungen, Modifizierungs- und Aufarbeitungsverfahren auszusuchen und entsprechende MCRs durchzuführen.
47. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei eine bereits durchgeführte Reaktion nicht wiederholt wird.
48. Verfahren nach Anspruch 46 oder 47, wobei die als am besten bewerteten Kodierungen des vorangegangenen Cyclus im nächsten Cyclus eingesetzt werden.
49. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 48, wobei bevorzugt ein genetischer Algorithmus oder ein Mustererkennungsverfahren, wie ein neuronales Netz oder eine Kombination eines genetischen Algorithmus mit einem neuronalen Netz, implizit oder explizit das Auftreten gewünschter Eigenschaften mit den Bestandteilen der Kodierung des entsprechenden Produktes der vorhergehenden Cyclen korreliert.
50. Verfahren nach Anspruch 49, wobei diejenigen Bestandteile der Kodierung der getesteten Produkte, welche

mit höherer Wahrscheinlichkeit mit den gewünschten Eigenschaften explizit oder implizit korrelieren, mit höherer Wahrscheinlichkeit für die Generierung der neuen Kodierungen verwendet werden.

51. Verfahren nach Anspruch 49, wobei solche Kodierungen, deren Produkte keine gute Bewertung erhalten haben, nicht für die Generierung neuer Kodierungen verwendet werden.
52. Verfahren nach Anspruch 49 oder 50, wobei einzelne Bestandteile der neuen Kodierungen durch einen Zufallsgenerator aus der Zahl der möglichen Kodierungen ausgewählt werden.
53. Verfahren nach Anspruch 49, 50 oder 52, wobei einzelne Bestandteile der neuen Kodierungen durch einen Zufallsgenerator aus dem Genom entfernt oder hinzugefügt werden.
54. Verfahren nach Anspruch 52 oder 53, wobei die Zuordnung der Wahrscheinlichkeit einer zufälligen Auswahl eines solchen Bausteins vom Typ dieses Bausteins abhängt.
55. Verfahren nach Anspruch 52, 53 oder 54, wobei die Kodierungen zufällig in eine oder mehrere Gruppen, sogenannte Populationen eingeteilt werden, wobei besonders bevorzugt die Kodierungen einer Gruppe nur für die Generierung neuer Kodierungen einer neuen Gruppe



von Genomen benutzt werden und somit jede dieser Populationen eine neue Population erzeugt.

56. Verfahren nach Anspruch 55, wobei nach einer beliebigen Zahl von Cyclen alle Populationen von Genomen in eine neue Anzahl von Populationen mit gleicher oder einer veränderten Zahl an Genomen aufgeteilt werden.
57. Verfahren nach Anspruch 56, wobei diese Neuauftteilung vorgenommen wird, wenn in einer Population ein Produkt besonders wünschenswerte Eigenschaften aufweist.
58. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei bis zu 30 Cyclen benötigt werden, um ein Produkt mit besonders wünschenswerten Eigenschaften zu finden.
59. Verfahren nach Anspruch 58, wobei die Wahrscheinlichkeit der Auffindung eines solchen Produktes bereits nach 2 bis 6 Cyclen durch die Differenz des durchschnittliche Ausmaß der Erfüllung der Zielkriterien durch die Produkte einer Population aus einem Cyclus  $x$  und des durchschnittliche Ausmaß der Erfüllung der Zielkriterien durch die Produkte einer Population aus einem späteren Cyclus  $x+i$  abgeschätzt wird, wobei  $i$  eine ganze natürliche Zahl ist.
60. Verfahren nach Anspruch 59, wobei diese Differenz dazu dienen kann, eine neue Anzahl Edukte, Reaktionsbe-

dingungen, Modifizierungen oder Aufarbeitungen auszuwählen und das iterative Verfahren neu zu beginnen.

61. Verfahren nach Anspruch 60, wobei das iterative Verfahren neu begonnen wird, wenn die Differenz klein ist.
62. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die in dem Reaktionsprodukt, welches die gewünschten Eigenschaften in den Testungen gezeigt hat, enthaltenen chemische Verbindungen gereinigt und deren Struktur bestimmt wird.
63. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei es sich bei der Analyse der Produkte um die Untersuchung handelt, ob das Produkt therapeutische Eigenschaften aufweist.

## Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 1

Platte 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-17.79	8.97	15.09	4.78	3.16	4.78	19.28	3.81	-7.48	2.52	-5.22	8.64
B	6.39	17.99	19.93	11.87	17.67	11.87	21.86	12.51	17.03	14.45	22.51	12.83
C	10.58	17.03	26.05	21.22	25.09	21.86	19.28	21.22	9.93	10.26	-1.35	9.29
D	14.45	17.35	27.02	21.22	22.18	29.60	22.51	17.67	19.28	14.77	13.16	14.45
E	20.57	16.38	27.66	19.93	27.34	20.25	15.09	15.09	15.41	17.35	16.70	1.23
F	27.66	25.73	23.47	24.44	24.76	25.73	21.86	17.99	21.54	22.18	13.48	12.51
G	4.45	18.64	18.64	14.45	16.06	17.99	19.28	20.57	16.70	13.80	15.09	-3.28
H	-9.09	17.67	20.89	3.16	20.57	8.97	20.57	-2.32	11.22	-0.71	4.45	-11.02
Platte 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-16.82	6.06	8.97	6.06	12.83	13.16	13.16	9.29	10.90	-7.48	-5.54	-23.92
B	6.71	4.13	21.86	19.61	30.57	14.12	27.99	17.03	18.96	5.10	9.61	0.26
C	6.06	23.80	30.24	16.06	15.41	18.32	26.38	17.35	26.38	18.32	16.06	11.87
D	17.99	21.54	23.47	32.32	32.13	24.76	23.47	23.80	21.86	18.64	14.77	8.00
E	17.35	17.99	23.80	21.54	25.09	27.02	22.18	17.67	19.61	18.96	3.16	15.09
F	12.51	28.95	32.32	27.02	29.28	26.05	24.44	23.80	23.15	16.70	10.90	13.16
G	14.12	33.47	29.92	27.02	24.76	27.99	18.32	29.28	27.66	10.26	-1.35	-6.51
H	11.55	14.12	12.83	20.57	22.51	14.77	8.64	2.84	-9.09	-4.25	-11.67	-31.01



Inhibition &gt; 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

Inhibition &lt; 20%



## Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 1

Platte 3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-15.21	2.20	23.47	8.00	21.22	16.70	20.25	8.97	21.86	16.38	-11.02	5.42
B	1.23	-2.64	34.49	37.34	33.05	35.40	28.31	34.75	31.36	19.61	27.66	8.00
C	9.93	14.45	32.50	32.13	24.76	32.32	33.05	25.09	29.28	28.95	20.25	2.84
D	18.64	15.74	32.18	22.18	31.16	37.34	33.32		29.28	17.67	28.31	13.16
E	15.41	27.02	28.31	37.34				31.53	30.24	28.63	29.28	21.22
F	18.96	26.38	32.18	38.95	37.34	28.63	35.17	31.53	23.80	31.36	27.34	9.61
G	13.80	27.02	29.92	30.24	32.50	37.34	31.21	37.34	27.02	27.02	18.64	-1.03
H	15.41	12.19	22.18	4.78	16.70	-4.90	-1.99	-9.09	-1.67	2.84	-5.22	-19.08

Platte 4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	16.70	10.58	22.18	19.28	14.45	19.61	21.86	17.99	11.87	7.35	7.03	11.87
B	8.64	17.67	34.11	31.86	33.79	28.95	30.37	29.60	30.57	18.96	19.61	17.03
C	20.25	25.73	29.60	31.33	34.11	31.43	33.79	18.32	31.36	19.93	18.64	18.96
D	13.48	25.41	25.73	31.21	33.33	30.27	34.11	28.63	27.99	20.89	21.86	13.16
E	22.18	28.95	34.11	34.43	31.53	33.63	32.32	21.22	26.70	20.57	9.29	18.64
F	12.51	23.47	27.02	30.24	32.79	33.05	24.44	23.80	23.80	22.18	13.80	18.64
G	24.76	26.70	25.41	23.15	14.77	26.05	26.05	30.37	19.28	15.09	-0.06	8.00
H	7.03	16.70	20.25	5.10	2.52	-0.71	3.81	13.16	-1.35	-4.90	-3.61	-17.15

Inhibition &gt; 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

Inhibition &lt; 20%



*Pseudomonas aeruginosa*

Tabelle 1

Platte 5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	10.26	17.67	16.06	17.03	18.32	26.05	14.45	17.35	26.05	19.61	17.99	-3.93
B	23.80	26.05	28.95	21.86	30.82	31.56	27.66	27.02	25.73	26.38	23.80	10.26
C	20.57	19.93	30.89	34.11	25.67	36.37	35.77	29.28	25.73	22.83	22.18	17.67
D	23.15	28.31	34.43	33.15	30.57	37.01	34.21	24.12	27.34	24.44	27.66	20.89
E	18.32	19.93	17.67	18.96	29.92	34.11	34.21	28.95	20.89	14.12	12.19	16.70
F	30.67	19.93	23.47	28.31	26.38	33.15	34.86	21.54	22.83	20.25	18.64	16.70
G	18.64	12.83	14.45	17.99	21.22	21.22	19.28	12.19	12.19	17.03	8.00	11.22
H	13.80	18.32	18.96	19.61	-1.03	3.49	3.49	0.91	4.45	3.16	-13.60	-20.05
Platte 6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2.84	15.74	24.12	15.74	27.02	14.12	19.61	14.77	9.29	12.19	0.26	9.61
B	12.51	19.28	28.31	30.89	35.40	22.18	22.18	22.18	30.89	25.09	18.96	13.80
C	16.06	29.28	30.89	34.86	30.89	28.31	31.86	27.34	25.09	17.35	24.44	8.97
D	19.28	23.15	35.72	36.89	33.79	28.95	34.11	23.15	33.15	17.99	20.89	22.18
E	19.93	32.13	29.28	35.40	35.40	24.76	34.43	27.66	34.43	19.61	13.80	12.83
F	15.41	25.73	28.31	37.66	28.63	27.99	28.63	28.31	27.99	21.22	17.03	8.97
G	22.18	26.38	23.15	26.05	25.73	27.02	22.83	18.96	17.03	18.96	8.00	5.74
H	17.03	22.51	13.16	21.86	16.06	22.83	14.12	8.64	17.03	7.03	-8.44	-25.53



Inhibition > 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

Inhibition < 20%





## Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 1

Platte 7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	16.38	14.77	19.28	17.99	21.54	14.77	12.51	15.09	13.16	16.06	8.64	0.91
B	11.55	19.61	32.50	27.34	21.86	22.83	19.93	24.12	22.51	21.22	17.67	10.90
C	9.29	27.34	29.28	26.70	18.32	27.34	22.83	23.47	21.22	17.35	19.28	17.67
D	-0.06	21.86	29.92	24.76	14.77	13.80	24.44	25.41	18.64	18.32	11.55	17.03
E	9.61	24.76	28.95	30.24	30.57	32.39	22.51	-23.27	-4.57	9.61	19.93	17.35
F	3.49	28.31	26.05	21.86	19.61	23.80	18.96	23.80	16.06	10.58	23.15	11.55
G	12.19	24.12	17.67	25.41	24.44	18.64	22.83	7.03	19.28	18.32	3.49	1.55
H	10.58	18.64	10.90	13.48	14.77	17.03	8.97	17.03	10.26	8.97	-12.31	-17.47
Platte 8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-0.06	20.89	22.51	17.35	21.54	23.47	21.86	14.45	10.26	18.96	15.74	-3.61
B	13.80	10.90	28.63	33.77	19.28	15.74	15.41	16.06	14.77	14.45	6.71	-2.64
C	6.06	14.77	22.51	7.03	4.78	12.19	4.78	-20.05	15.74	14.77	8.00	13.48
D	15.41	16.38	9.93	0.26	-5.22	-9.73	-4.57	-6.51	-1.35	10.26	9.93	-1.03
E	0.58	17.99	-16.82	-3.93	0.26	-12.63	-15.53	-4.90	-2.64	10.58	10.26	6.71
F	20.25	16.38	22.83	-1.35	7.68	5.74	14.77	23.15	20.57	20.89	11.87	7.68
G	9.93	21.22	15.74	13.48	16.38	21.86	19.93	16.06	22.18	7.03	12.83	2.52
H	10.58	0.91	12.83	18.32	17.67	16.70	15.41	17.35	0.91	1.55	-2.32	-28.43



Inhibition &gt; 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

Inhibition &lt; 20%



## Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 1

Platte 9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	24.12	14.77	20.25	18.32	29.92	25.73	20.57	20.25	19.28	-1.99	-0.71	-26.50
B	25.09	28.63	27.02	20.89	23.47	9.93	14.45	13.16	4.13	6.06	0.26	-13.60
C	28.95	22.18	-19.40	-19.08	-27.46	-23.27	-35.52	-25.21	-28.75	-27.79	3.16	-3.93
D	25.73	14.45	-21.66	-27.46	-12.31	-29.08	-29.72	-26.17	-31.65	-24.88	-3.93	-4.90
E	29.28	18.32	-27.46	-31.65	-27.14	-25.85	-29.40	-41.00	-34.56	-28.43	4.78	4.13
F	25.41	20.25	-24.56	-30.04	-34.88	-35.20	-32.62	-33.91	-30.69	-17.15	-0.06	-0.38
G	20.57	17.03	9.61	14.12	18.64	17.99	13.16	10.26	1.55	0.26	3.16	-15.21
H	12.19	16.70	17.99	17.67	17.35	17.03	-2.64	9.61	4.13	13.16	2.84	-17.15
Platte 10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-10.70	-8.44	4.78	-8.76	8.32	4.45	0.26	-0.71	-6.83	-2.64	-8.12	-23.92
B	6.71	5.42	10.90	6.71	6.71	7.68	12.19	2.52	5.74	3.16	4.13	-11.99
C	-4.57	1.23	10.58	6.06	12.83	12.83	15.41	13.48	6.71	7.03	5.74	5.74
D	6.06	7.03	14.12	10.58	13.16	11.87	15.09	13.48	16.70	8.64	7.68	7.68
E	12.51	-1.67	20.89	14.77	5.74	12.51	13.80	12.51	11.22	5.74	16.38	10.26
F	11.55	14.45	19.93	12.51	15.41	18.64	16.06	11.22	14.12	6.39	18.64	1.87
G	4.45	4.13	15.41	10.58	9.93	9.61	9.93	4.78	6.71	9.29	-1.35	0.91
H	8.64	0.26	4.13	1.55	2.84	15.74	11.55	8.00	3.16	-2.32	-3.28	-4.57



Inhibition &gt; 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

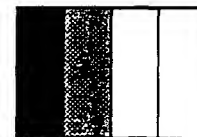
Inhibition &lt; 20%



## Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 1

Platte 11	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	3.49	-4.90	-4.90	-9.09	6.39	-8.76	-8.76					
B	-0.06	0.26	-0.38	-10.38	0.91	-7.15	-6.83					
C	6.06	-4.25	-2.32	-2.32	-3.93	-1.67	-4.25					
D	7.03	-1.35	-3.61	-1.03	-0.71	-2.96	-3.93					
E	-4.57	2.52	-1.03	-4.25	-1.67	-4.90	-3.61					
F	0.58	-2.32	-1.03	-1.03	-2.64	-0.71						
G	-1.67	1.55	-1.03	-5.86	-1.03	-1.67						
H	-1.35	-8.12	-5.86	-10.38	-9.41	-13.92						



Inhibition &gt; 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

Inhibition &lt; 20%



## Staphylococcus Aureus

Tabelle 2

Platte 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-4.59	-9.57	-5.15	-11.23	-15.09	-8.46	-1.28	-6.80	-6.80	-8.46	-10.12	-27.81
B	0.38	3.70	1.49	0.93	5.91	3.14	4.25	2.04	0.93	-2.38	-6.80	-9.02
C	-6.25	4.80	0.93	-2.94	3.14	5.91	5.91	-2.38	-9.02	-7.36	-13.99	-16.75
D	-2.38	1.49	0.93	-0.17	6.46	-6.80	2.04	-0.17	-3.49	-2.38	-1.28	-11.78
E	2.04	5.35	5.35	-3.49	-0.73	-1.83	-6.25	-1.28	-7.91	-5.15	-1.83	-12.88
F	0.38	3.70	0.93	1.49	7.01	4.25	0.93	-4.04	-3.49	-9.57	-2.94	-15.09
G	0.93	1.49	5.35	3.14	4.80	4.25	-1.83	-1.28	-6.80	-6.25	-11.23	-19.52
H	-10.12	-7.36	-11.23	-15.09	-10.12	-11.78	-12.33	-7.91	-8.46	-7.91	-13.44	-36.65
Platte 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-12.88	-8.46	0.38	2.59	4.80	9.22	6.46	8.12	9.22	9.22	2.04	0.93
B	6.46	9.22	13.09	13.09	19.72	14.75	17.51	10.33	12.54	11.99	9.78	5.35
C	2.04	18.07	20.28	20.83	23.04	25.25	16.96	20.83	17.51	14.75	10.33	4.25
D	9.22	18.07	23.04	18.07	16.96	18.62	13.09	19.17	13.09	15.85	8.67	7.56
E	7.56	19.17	15.30	20.28	20.83	15.85	18.62	20.28	13.64	9.22	8.12	0.38
F	8.12	13.09	17.51	20.28	20.28	18.62	12.54	16.96	14.20	8.12	18.07	7.01
G	1.49	10.88	16.96	17.51	19.72	15.85	19.17	13.09	8.12	7.01	4.25	8.67
H	-18.41	-4.59	-4.59	2.59	6.46	7.01	-7.91	5.35	10.33	-4.04	-7.36	-10.12



Inhibition &gt; 60%

Inhibition zwischen 50% und 60 %

Inhibition zwischen 40% und 50%

Inhibition &lt; 40%





## Staphylococcus Aureus

Tabelle 2

Platte 3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	25.25	19.17	30.22	24.70	31.88	36.30	29.12	32.44	24.15	26.91	24.15	21.93
B	25.25	32.44	40.17	40.17	42.94	37.41	40.73	39.07	35.20	36.86	32.44	28.57
C	30.78	39.62	44.59	44.04	45.15	47.91	45.15	43.49	44.59	44.59	35.75	32.99
D	31.88	40.17	46.80	47.36	46.25	44.59	49.57	42.38	41.28	45.70	37.96	33.54
E	29.12	42.94	43.49	46.25	44.04	52.38	53.99	50.67	46.25	44.59	40.17	32.99
F	30.22	36.30	44.04	44.04	44.04	44.59	47.36	46.25	46.25	47.36	41.28	36.30
G	28.01	38.51	34.65	39.62	41.28	44.59	41.83	44.04	45.70	39.07	42.38	32.44
H	20.28	36.30	21.38	32.44	34.65	36.86	29.12	35.75	41.83	26.91	26.36	26.36
Platte 4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	36.30	34.09	6.46	35.75	39.07	34.65	39.62	31.88	38.51	31.88	34.09	31.88
B	21.93	40.73	3.70	47.36	46.25	44.59	47.91	44.59	45.70	39.62	38.51	35.75
C	32.44	40.17	19.72	50.12	51.73	51.73	53.44	45.70	49.02	47.36	42.38	35.75
D	29.67	47.36	9.22	45.70	49.57	49.02	52.34	50.12	51.73	49.02	46.80	41.83
E	35.75	44.59	8.12	52.38	53.44	53.44	57.86	49.57	52.38	45.15	42.94	39.62
F	30.22	42.38	11.99	45.70	47.91	49.02	49.02	48.46	50.67	46.25	43.49	36.86
G	30.22	39.62	41.28	41.28	42.38	45.70	44.59	44.59	45.70	40.73	36.30	25.25
H	17.51	-7.91	25.25	25.25	28.01	31.33	28.57	24.70	23.04	17.51	20.28	20.83

Inhibition &gt; 60%

Inhibition zwischen 50% und 60 %

Inhibition zwischen 40% und 50%

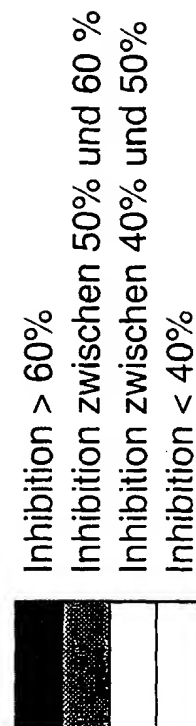
Inhibition &lt; 40%



Staphylococcus Aureus

Tabelle 2

Platte 5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	42.94	44.04	40.17	47.36	43.49	45.70	34.65	42.38	36.86	38.51	34.09	31.33
B	38.51	46.25	47.91	47.36	48.46	46.80	49.02	50.12	49.57	45.70	40.73	34.65
C	45.15	50.12	49.02	51.23	53.99	56.20	53.99	52.33	51.23	52.33	42.94	34.09
D	35.75	46.25	52.33	55.65	50.67	47.91	50.67	53.99	51.78	50.12	44.04	37.96
E	44.04	45.15	51.23	49.57	54.54		52.33	53.65	53.44	50.12	44.59	37.41
F	45.70	45.70	47.91	49.02	51.23	52.33	47.91	50.67	50.67	48.46	42.38	37.41
G	37.96	30.22	42.94	42.38	45.70	45.70	45.15	45.70	41.83	43.49	35.75	39.62
H	33.54	22.49	34.65	31.88	34.65	32.99	31.33	32.44	33.54	35.20	31.33	28.01
Platte 6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	42.38	41.83	44.04	45.70	46.80	44.59	50.12	44.04	41.83	40.17	43.49	41.28
B	42.94	49.02	52.33	49.57	54.54	53.99	52.33	48.46	53.44	49.02	47.36	44.59
C	40.17	51.23	53.99	55.65	56.75	53.99	57.36	56.75	56.75	55.09	49.02	41.83
D	44.59	49.02	52.33			51.23	54.54	52.33	55.09	53.99	46.25	40.73
E	37.96	48.46	55.65	56.20	55.65	57.36		55.09	53.44	51.23	48.46	38.51
F	37.96	44.04	46.25	50.67	49.57	50.67	50.67	52.33	54.54	50.67	48.46	42.94
G	31.88	40.17	41.83	45.15	48.46	49.57	46.25	48.46	51.23	47.36	42.94	41.28
H	31.33	32.99	33.54	40.17	39.62	41.83	36.86	41.83	36.30	35.20	42.94	30.22

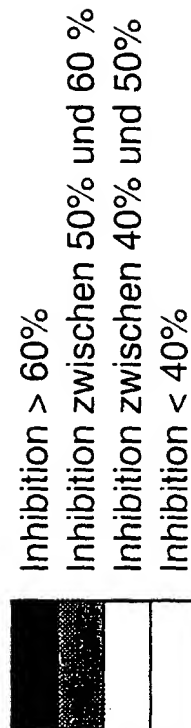




Staphylococcus Aureus

Tabelle 2

Platte 7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	40.17	44.04	42.94	47.36	49.02	45.70	44.04	46.80	41.83	39.07	41.28	38.51
B	37.41	46.80	46.25	48.46	49.02	52.88	50.67	48.46	51.78	49.02	45.15	40.73
C	40.73	48.46	47.91	52.38	51.23	53.99	52.38	55.09	53.99	51.78	49.57	31.33
D	36.86	47.36	49.57	54.54	53.09	50.67	47.36	51.78	53.44	52.88	50.12	36.30
E	39.62	46.25	46.80	59.52			55.69	56.75	59.52	51.23	46.25	39.62
F	35.20	48.46	46.80	49.57	51.23	57.31	51.78	47.91	44.59	49.57	42.94	39.62
G	35.20	39.62	38.51	44.59	47.91	45.15	47.36	39.07	44.59	46.25	37.41	32.44
H	32.99	30.78	31.88	37.41	38.51	39.07	27.46	41.83	34.65	36.30	25.80	34.65
Platte 8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	31.33	37.96	38.51	40.17	44.04	46.80	41.83	45.15	36.30	41.28	39.62	32.44
B	40.17	45.70	42.94	47.91	46.80	49.02	43.49	50.12	45.70	47.36	39.07	30.22
C	35.75	40.17	47.91	49.57	45.15	26.36	29.12	31.88	37.41	37.41	43.49	30.22
D	40.73	44.04	50.67	11.99	8.12	4.25	0.38	5.35	5.91	7.56	40.17	35.20
E	34.65	40.73	47.91	3.70	8.67	-2.94	-3.49	5.35	4.25	2.04	32.99	35.75
F	37.96	43.49	41.83	29.67	21.38	7.01	10.33	18.07	5.91	19.17	35.75	40.17
G	35.75	37.41	44.59	42.38	46.25	44.04	46.25	44.59	44.59	41.83	39.07	31.88
H	29.67	32.99	36.86	32.44	34.09	37.96	34.65	32.44	32.99	28.01	23.59	38.51

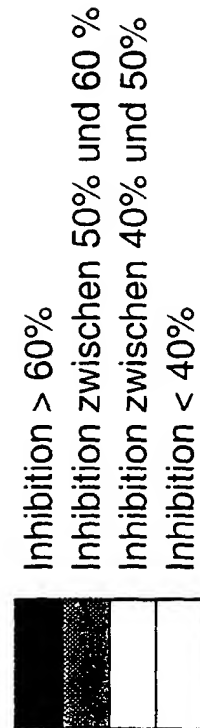




Staphylococcus Aureus

Tabelle 2

Platte 9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	39.07	36.30	42.38	39.07	38.51	40.17	32.44	35.75	35.75	40.17	34.09	35.20
B	37.41	39.07	42.38	44.59	42.94	38.51	38.51	41.28	42.94	38.51	37.96	30.22
C	35.75	46.25	43.49	44.04	47.91	45.70	46.80	45.70	43.49	43.49	41.83	34.09
D	35.75	42.94	49.57	47.36	32.33	51.78	48.46	49.02	47.91	46.25	41.28	32.99
E	32.99	38.51	46.80	48.46	51.20	50.12	51.78	49.57	51.78	51.78	39.07	35.20
F	33.54	41.28	42.94	45.15	55.65	51.23	51.78	51.20	45.15	32.99	39.62	29.67
G	31.88	39.62	41.28	39.07	42.94	42.94	36.30	39.62	35.20	37.96	32.99	36.30
H	32.44	29.67	27.46	34.09	31.88	30.78	31.88	33.54	31.88	27.46	26.91	26.36
Platte 10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	26.91	24.15	33.54	34.09	30.78	34.65	28.01	32.99	25.25	26.36	32.44	28.01
B	27.46	35.20	34.65	35.75	38.51	35.75	34.09	28.57	35.20	30.22	30.22	22.49
C	26.91	34.65	39.62	44.04	44.04	39.62	39.62	39.07	37.96	36.86	35.20	25.80
D	34.65	34.09	42.94	34.09	39.62	36.86	37.41	40.17	35.20	36.30	36.30	29.12
E	32.99	35.20	39.07	36.86	35.20	31.88	37.41	36.30	40.17	32.44	34.09	29.12
F	29.67	33.54	40.73	32.44	35.75	35.20	34.09	35.75	34.09	37.96	35.20	15.85
G	31.33	30.78	30.22	29.67	35.75	36.30	35.20	40.17	37.96	32.99	25.80	26.91
H	28.01	13.64	28.57	23.59	20.83	28.57	27.46	25.25	23.04	28.57	23.04	26.36



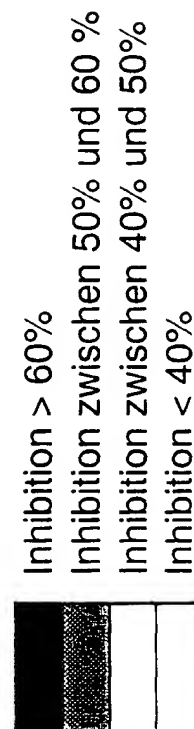




Staphylococcus Aureus

Tabelle 2

Platte 11	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	12.54	10.88	8.12	13.64	8.67	13.64	15.85					
B	7.01	18.07	16.96	13.09	14.75	14.20	16.41					
C	14.20	9.22	1.49	10.33	18.62	13.09	13.64					
D	15.85	9.22	4.80	14.75	19.72	14.20	11.99					
E	8.67	8.67	2.59	8.67	13.09	13.09	13.09					
F	9.22	13.64	4.80	8.67	11.99	14.20						
G	4.80	18.62	8.67	7.01	13.09	7.01						
H	-0.73	5.91	7.56	12.54	9.22	4.80						





Pseudomonas aeruginosa Tabelle 3

Platte Nr.	Reihe	Spalte	Edukt-Kombination	% Inhibition von Pseudomonas aeruginosas
3	D	8	2.3.4.7	40.88
3	E	6	1.5.8.9	40.56
3	E	5	1.4.9.10	40.24
3	E	7	1.6.9.10	40.24
4	D	6	3.6.7.9	39.27
3	F	4	1.4.6.9	38.95
4	D	5	3.5.6.10	38.63
3	G	6	1.5.9.10	37.98
6	F	4	2.3.4.6.10	37.66
3	B	4	1.4.5.9	37.34
3	E	4	1.4.6.8	37.34
3	F	5	1.5.6.7	37.34
3	D	6	1.5.7.10	37.34
3	G	8	2.3.4.10	37.34
5	D	6	1.2.7.8.9	37.01
4	E	6	3.6.7.10	36.69
6	D	4	2.3.4.6.8	36.69



Tabelle 3

Pseudomonas aeruginosa

3	F	7	1.7.8.9	36.37
5	C	5	1.2.5.8.9	36.37
5	C	6	1.2.6.9.10	36.37
3	B	5	1.4.7.10	36.05
3	C	7	1.6.8.9	36.05
4	F	6	3.6.8.9	36.05
5	C	7	1.3.4.5.9	35.72
6	D	3	1.6.8.9.10	35.72
3	B	6	1.5.7.8	35.40
6	E	4	2.3.4.6.9	35.40
6	B	5	2.3.4.8.9	35.40
6	E	5	2.3.5.6.7	35.40
3	B	8	2.3.4.5	34.76
3	B	3	1.3.7.9	34.43
4	E	4	3.4.7.10	34.43
4	C	6	3.6.7.8	34.43
4	D	7	3.8.9.10	34.43
5	D	3	1.2.4.6.9	34.43
6	E	7	2.3.7.8.9	34.43



Tabelle 3

Pseudomonas aeruginosa

6	E	9	2.4.6.7.10	34.43
4	B	3	3.4.5.6	34.11
4	E	3	3.4.5.9	34.11
4	C	5	3.5.6.9	34.11
5	C	4	1.2.4.9.10	34.11
5	E	6	1.2.7.8.10	34.11
6	D	7	2.3.6.9.10	34.11
4	B	5	3.5.6.8	33.79
4	F	5	3.5.7.9	33.79
4	C	7	3.7.9.10	33.79
6	D	5	2.3.4.9.10	33.79
2	G	2	3.4.6	33.47
8	B	4	1.3.4.5.6.7	33.47
5	D	4	1.2.5.6.7	33.15
5	F	6	1.2.7.9.10	33.15
6	D	9	2.4.6.7.9	33.15
2	F	3	3.5.8	32.82
2	D	4	3.6.10	32.82





Tabelle 4

Staphylococcus aureus

Platte Nr.	Reihe	Spalte	Edukt-Kombination	% Inhibition von Staphylococcus aureus
7	E	5	4.5.7.8.9	63.39
6	E	7	2.3.7.8.9	62.83
7	E	6	4.7.8.9.10	61.17
6	D	5	2.3.4.9.10	60.62
5	E	6	1.2.7.8.10	60.62
6	D	4	2.3.4.6.8	60.07
7	E	4	3.6.8.9.10	59.52
7	E	9	1.2.3.5.6.9	59.52
4	E	6	3.6.7.10	58.41
6	C	7	2.3.6.8.10	57.86
4	E	7	4.5.6.7	57.86
7	F	6	5.6.7.8.9	57.31
6	E	6	2.3.5.8.10	57.31
7	E	8	1.2.3.4.7.8	56.75
6	C	5	2.3.4.8.10	56.75
6	C	8	2.4.5.6.9	56.75



1

2

3

4

Staphylococcus aureus  
Tabelle 4

6	C	9	2.4.6.7.8	56.75
6	E	4	2.3.4.6.9	56.20
5	C	6	1.2.6.9.10	56.20
9	F	5	2.5.6.7.9.10	55.65
7	E	7	1.2.3.4.5.7	55.65
6	E	3	1.7.8.9.10	55.65
6	C	4	2.3.4.6.7	55.65
6	E	5	2.3.5.6.7	55.65
5	D	4	1.2.5.6.7	55.65
5	E	8	1.3.4.8.10	55.65
7	D	5	4.5.6.9.10	55.09
7	C	8	1.2.3.4.6.9	55.09
6	C	6	2.3.5.7.10	55.09
6	E	8	2.4.5.7.8	55.09
6	D	9	2.4.6.7.9	55.09
6	C	10	2.4.7.9.10	55.09
7	D	4	3.6.7.9.10	54.54
6	B	5	2.3.4.8.9	54.54
6	D	7	2.3.6.9.10	54.54
6	F	9	2.4.6.8.9	54.54



Staphylococcus aureus      Tabelle 4

5	E	5	1.2.5.9.10	54.54
4	D	7	3.8.9.10	54.54
7	C	6	4.6.7.9.10	53.99
7	C	9	1.2.3.5.6.7	53.99
6	C	3	1.6.7.9.10	53.99
6	B	6	2.3.5.7.9	53.99
6	D	10	2.4.8.9.10	53.99
5	C	5	1.2.5.8.9	53.99
5	C	7	1.3.4.5.9	53.99
5	D	8	1.3.4.8.9	53.99
3	E	7	1.6.9.10	53.99
7	D	9	1.2.3.5.6.8	53.44
6	B	9	2.4.5.9.10	53.44
6	E	9	2.4.6.7.10	53.44
5	E	9	1.3.5.7.10	53.44
4	E	5	3.5.7.8	53.44
4	C	7	3.7.9.10	53.44
7	B	6	4.6.7.8.10	52.88
7	C	7	6.7.8.9.10	52.88



1  
2  
3  
4

5  
6  
7  
8

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/00462

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
 IPC 7 C07B61/00 G01N33/53

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
 IPC 7 C07B G01N G06F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WEBER L. ET AL.: "Optimization of the biological activity of combinatorial compound libraries by a genetic algorithm" ANGEWANDTE CHEMIE INT. ED., vol. 34, no. 20, 1995, pages 2280-2282, XP002153818</p> <p>the whole document</p>	<p>1,3,5,6, 10-16, 18-20, 22,23, 31,34, 36,37, 46, 48-53, 58,62,63</p>
A	<p>WO 94 24314 A (KAUFFMAN STUART A ;REBEK JULIUS JR (US)) 27 October 1994 (1994-10-27) cited in the application claims 1,23</p> <p style="text-align: center;">--- -/-</p>	<p>1</p>

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

\*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

\*E\* earlier document but published on or after the international filing date

\*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

\*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

\*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*8\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 November 2000

Date of mailing of the international search report

13/12/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Held, P

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 463 564 A (AGRAFIOTIS DIMITRIS K ET AL) 31 October 1995 (1995-10-31) cited in the application column 1, line 9 - line 14 claim 1 figures 10,11	1
A	FAUCHERE J -L ET AL: "Combinatorial chemistry for the generation of molecular diversity and the discovery of bioactive leads" CHEMOMETRICS AND INTELLIGENT LABORATORY SYSTEMS,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, vol. 43, no. 1-2, 28 September 1998 (1998-09-28), pages 43-68, XP004146894 ISSN: 0169-7439 page 47, right-hand column, last paragraph -page 48, left-hand column page 56, right-hand column, last paragraph -page 57, right-hand column, paragraph 1	1
A	DÖMLING A.: "Isocyanide based multi component reactions in combinatorial chemistry" COMBINATORIAL CHEMISTRY & HIGH THROUGHPUT SCREENING, vol. 1, 1998, pages 1-22, XP000960970 page 2, left-hand column, paragraph 4 -right-hand column, last paragraph page 17, right-hand column -page 20, left-hand column, paragraph 4	1
A	UGI I. ET AL.: "Molecular libraries in liquid phase via Ugi-MCR" RESEARCH OF CHEMICAL INTERMEDIATES, vol. 22, 1996, pages 625-644, XP000961119 the whole document	1
A	KHOSLA C. & ZAWADA J.X.: "Generation of polyketide libraries via combinatorial biosynthesis" TIBTECH, vol. 14, 1996, pages 335-341, XP002153819 figures 4,5	1

-/--



## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WARR W A: "COMBINATORIAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIVERSITY. AN OVERVIEW" JOURNAL OF CHEMICAL INFORMATION AND COMPUTER SCIENCES, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, COLOMBUS, OHIO, vol. 37, no. 1, 1997, pages 134-140, XP000765620 ISSN: 0095-2338 figure 5</p>	1

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/00462

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9424314 A	27-10-1994	AU 6815894 A	08-11-1994
		AU 8002098 A	22-10-1998
		CA 2160457 A	27-10-1994
		EP 0695368 A	07-02-1996
		JP 9500007 T	07-01-1997
<hr/>			
US 5463564 A	31-10-1995	AU 688598 B	12-03-1998
		AU 3628095 A	29-03-1996
		AU 710152 B	16-09-1999
		AU 7188698 A	30-07-1998
		CA 2199264 A	21-03-1996
		EP 0781436 A	02-07-1997
		HU 77914 A	28-10-1998
		IL 115292 A	20-06-1999
		IL 125017 A	14-07-1999
		JP 10505832 T	09-06-1998
		WO 9608781 A	21-03-1996
		US 5574656 A	12-11-1996
		US 5684711 A	04-11-1997
		US 5901069 A	04-05-1999
<hr/>			

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 C07B61/00 G01N33/53

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07B G01N G06F

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WEBER L. ET AL.: "Optimization of the biological activity of combinatorial compound libraries by a genetic algorithm" ANGEWANDTE CHEMIE INT. ED., Bd. 34, Nr. 20, 1995, Seiten 2280-2282, XP002153818  das ganze Dokument	1,3,5,6, 10-16, 18-20, 22,23, 31,34, 36,37, 46, 48-53, 58,62,63
A	WO 94 24314 A (KAUFFMAN STUART A ;REBEK JULIUS JR (US)) 27. Oktober 1994 (1994-10-27) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche 1,23  --- -/--	1



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

24. November 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

13/12/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Held, P

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 463 564 A (AGRAFIOTIS DIMITRIS K ET AL) 31. Oktober 1995 (1995-10-31) in der Anmeldung erwähnt Spalte 1, Zeile 9 - Zeile 14 Anspruch 1 Abbildungen 10,11 ---	1
A	FAUCHERE J -L ET AL: "Combinatorial chemistry for the generation of molecular diversity and the discovery of bioactive leads" CHEMOMETRICS AND INTELLIGENT LABORATORY SYSTEMS,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, Bd. 43, Nr. 1-2, 28. September 1998 (1998-09-28), Seiten 43-68, XP004146894 ISSN: 0169-7439 Seite 47, rechte Spalte, letzter Absatz -Seite 48, linke Spalte Seite 56, rechte Spalte, letzter Absatz -Seite 57, rechte Spalte, Absatz 1 ---	1
A	DÖMLING A.: "Isocyanide based multi component reactions in combinatorial chemistry" COMBINATORIAL CHEMISTRY & HIGH THROUGHPUT SCREENING, Bd. 1, 1998, Seiten 1-22, XP000960970 Seite 2, linke Spalte, Absatz 4 -rechte Spalte, letzter Absatz Seite 17, rechte Spalte -Seite 20, linke Spalte, Absatz 4 ---	1
A	UGI I. ET AL.: "Molecular libraries in liquid phase via Ugi-MCR" RESEARCH OF CHEMICAL INTERMEDIATES, Bd. 22, 1996, Seiten 625-644, XP000961119 das ganze Dokument ---	1
A	KHOSLA C. & ZAWADA J.X.: "Generation of polyketide libraries via combinatorial biosynthesis" TIBTECH, Bd. 14, 1996, Seiten 335-341, XP002153819 Abbildungen 4,5 --- -/--	1

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>WARR W A: "COMBINATORIAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIVERSITY. AN OVERVIEW" JOURNAL OF CHEMICAL INFORMATION AND COMPUTER SCIENCES,US,AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, COLOMBUS,OHIO, Bd. 37, Nr. 1, 1997, Seiten 134-140, XP000765620 ISSN: 0095-2338 Abbildung 5</p> <p>-----</p>	1

# INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/00462

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9424314 A	27-10-1994	AU 6815894 A	08-11-1994
		AU 8002098 A	22-10-1998
		CA 2160457 A	27-10-1994
		EP 0695368 A	07-02-1996
		JP 9500007 T	07-01-1997
US 5463564 A	31-10-1995	AU 688598 B	12-03-1998
		AU 3628095 A	29-03-1996
		AU 710152 B	16-09-1999
		AU 7188698 A	30-07-1998
		CA 2199264 A	21-03-1996
		EP 0781436 A	02-07-1997
		HU 77914 A	28-10-1998
		IL 115292 A	20-06-1999
		IL 125017 A	14-07-1999
		JP 10505832 T	09-06-1998
		WO 9608781 A	21-03-1996
		US 5574656 A	12-11-1996
		US 5684711 A	04-11-1997
		US 5901069 A	04-05-1999